

# MIKROCHEMIE DER PFLANZE

VON

DR. HANS MOLISCH

ORD. PROFESSOR UND DIREKTOR DES PFLANZENPHYSIOLOGISCHEN INSTITUTS  
AN DER UNIVERSITÄT IN WIEN

DRITTE, NEUBEARBEITETE AUFLAGE

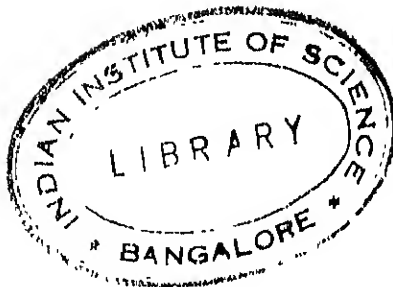
MIT 135 ABBILDUNGEN IM TEXT



JENA  
VERLAG VON GUSTAV FISCHER  
1923

2878

Alle Rechte vorbehalten.



5. 1. 11

N23

#### IV

ganz anderes, Reaktionen in einem Wassertropfen und in einem Gewebe durchzuführen. Im Wassertropfen liegen die Verhältnisse, da seine Zusammensetzung, auch wenn mehrere Substanzen darin gelöst sind, relativ sehr einfach, im Vergleich zu der höchst komplizierten Zusammensetzung der Zelle. Hier befinden sich viele, vielleicht mehr als hundert Substanzen nebeneinander, darunter viele kolloidaler Natur, die die Reaktionen und insbesondere die Kristallisationen nur allzuhäufig hemmen. In der Überprüfung und in der Anwendung der BEHMENSSCHEN Ergebnisse auf die Histochemie der Pflanze winkt dem Botaniker eine wichtige und vielfach dankbare Aufgabe, die aber noch größtenteils ungelöst vorliegt. Jedenfalls wurde das Interesse für mikrochemische Untersuchungen durch H. BEHMENNS sehr geweckt und durch LEMMONS ausgezeichnetes „Lehrbuch der Mikrochemie“, Wiesbaden 1911, das sich aber nicht mit der Mikrochemie der Pflanze, sondern mit den allgemeinen Grundlagen der Mikrochemie und, ähnlich wie BEHMENNS, mit der des Tropfens befaßt, noch gesteigert. Bei so vorbereitetem Boden und bei dem allgemeinen Interesse, das man jetzt der Biochemie entgegenbringt, war das Bedürfnis nach einem Werke, das die Mikrochemie der Pflanze in weiterem Umfange auf der Basis der heutigen Erfahrungen behandelt, erwacht, und deshalb habe ich mich zur Herausgabe eines solchen Buches entschlossen. Bei seiner Abfassung war ich bestrebt, das Vorhandene kritisch zu prüfen, die verschiedenen Reaktionen aus eigener Anschauung kennen zu lernen und auf ihren Wert und ihre Brauchbarkeit zu untersuchen — eine Aufgabe, die bei dem großen Umfang des Stoffes nicht leicht zu bewältigen war. Es sollte nicht bloß eine Übersicht gegeben, sondern da, wo noch so viel Unreifes und Zweifelhafte im Wege stand, Spreu vom Weizen geschieden und, wenn möglich, durch eigene Erfahrung gestützt werden.

Mit Figuren wurde das Buch, um das Verständnis zu erleichtern, reichlich ausgestattet. Man wird hier vergeblich nach alten bekannten Bildern suchen, sondern fast nur Originalfiguren — weit über hundert — finden, die, von einigen Ausnahmen und den Photographien abgesehen, alle von der geübten Hand meines Assistenten, Herrn JOSEF GICKLHORN, herrühren. Für die große Mühe und die Sorgfalt, die er darauf verwendete, sage ich ihm meinen herzlichsten Dank. Ferner danke ich ihm sowie Herrn Privatdozenten Dr. V. GRAFE und Herrn Dr. K. FREDE verbindlichst für die Durchsicht der Druckkorrektur. Möge dieses Werk zu neuen Untersuchungen anregen und der Mikrochemie, die in der Zellenlehre der Zukunft sicherlich eine bedeutungsvolle Rolle spielen wird, neue Freunde gewinnen.

Wien, im Mai 1913.  
Pflanzenphysiologisches Institut  
der k. k. Universität.

Hans Molisch.

## Vorwort zur 2. Auflage.

Die 1. Auflage dieses Buches erschien knapp vor dem Ausbruch des Weltkrieges. Sein Export aus Deutschland wurde dann einer Verordnung zufolge, die viele in Deutschland erschienene chemische Bücher betraf, verboten. Wenn das Buch jetzt trotzdem vergriffen erscheint, so muß es doch in weiteren Kreisen Interesse erweckt haben, und deshalb folgte ich gerne der Einladung meines Herrn Verlegers, eine Neuauflage zu besorgen. — Die Mikrochemie schreitet unaufhaltsam vor; ich habe mich daher bemüht, alles, was an exakten, sichergestellten Untersuchungen neu hinzugekommen ist, aufzunehmen, so daß das Werk den neuesten Standpunkt unserer Wissenschaft vertritt. Die wertvollen Untersuchungen WILLSTÄTTERS über das Chlorophyll, die Carotine und die Anthocyane, meine mikrochemischen Untersuchungen, die fortlaufend erschienen sind, die einschlagigen Beobachtungen meiner Schüler und vieler anderer Mikrochemiker wurden, so weit es der dargebotene Raum gestattete, berücksichtigt und durch 18 neue Figuren, die mein Assistent, Herr J. KISSER ausführte, veranschaulicht.

Ich war, das darf ich mit gutem Gewissen sagen, bestrebt, wie in der 1. so auch in der 2. Auflage, das Meiste nicht bloß auf gutem Glauben aufzunehmen, sondern selbst auf seine Richtigkeit zu prüfen — eine unheißvolle Arbeit, die der Leser kaum ermessen kann, weil oft das Ergebnis tagelanger Arbeit in einer oder wenigen Zeilen Platz fand.

Schließlich gehorche ich einer angenehmen Pflicht, wenn ich meinem verehrten Herrn Verleger, G. FISCHER, für sein Entgegenkommen und die ausgezeichnete Ausstattung der Neuauflage herzlichen Dank sage, desgleichen meinen Assistenten den Herren Dr. G. KLEIN, Dr. A. LAMBERGER, J. KISSER und H. BRUNSWIK für ihre Hilfe beim Lesen der Korrektur.

Wien, im April 1921.

Hans Molisch.



## Vorwort zur 3. Auflage.

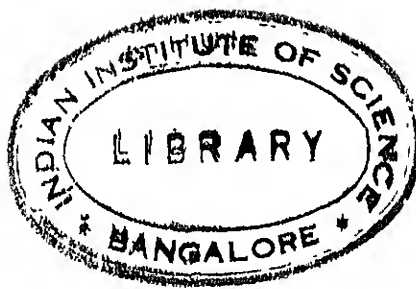
Da die 2. Auflage erst vor kurzem erschienen ist und schon jetzt durch eine 3. Auflage ersetzt werden mußte, so waren einschneidende Änderungen nicht nötig. Nichtsdestoweniger habe ich nicht verabsäumt, alles, was an wertvollen neuen Arbeiten erschienen und mir zugänglich war, zu berücksichtigen, so daß das Buch wieder auf den neuesten Standpunkt gebracht wurde.

Für die Besorgung der Korrekturen habe ich meinen Assistenten, dem Herrn Privatdozenten Dr. G. KLEIN und den Herren Dr. A. LIMBERGER, Dr. J. KISSER und K. PIRSCHKE, auf das herzlichste zu danken.

Besonderen Dank habe ich auch meinem verehrten Herrn Verleger G. FISCHER für die ausgezeichnete Ausstattung des Buches zu sagen.

Kaiserl. Universität  
Sendai in Japan 1922.

Hans Molisch.



## Inhaltsübersicht.

### A. Allgemeiner Teil.

#### Einleitung.

	Seite
1. Licht- und Schattenseiten der Mikrochemie . . . . .	3
2. Ergebnisse der Mikrochemie usw. . . . .	7

#### Methodik.

1. Instrumente und Utensilien . . . . .	13
2. Reagentien . . . . .	16
3. Die Herstellung eines mikroskopischen Präparates . . . . .	22
4. Beachtenswerte Winke . . . . .	21
5. Borodin's Methode . . . . .	21
6. Über den Nachweis der alkalischen und sauren Reaktion des Zellinhaltes und seiner Teile . . . . .	25
7. Die Mikrosublimation . . . . .	28
8. Fluoreszenz . . . . .	31
9. Das polarisierte Licht . . . . .	32
Literatur . . . . .	35

### B. Spezieller Teil.

#### A. Anorganischer Teil

##### a) Kationen

1. Eisen . . . . .	11
2. Aluminium . . . . .	11
3. Mangan . . . . .	16
4. Calcium . . . . .	18
5. Magnesium . . . . .	58
6. Kalium . . . . .	60
7. Natrium . . . . .	61
8. Ammonium . . . . .	65

##### b) Anionen.

1. Sulfation . . . . .	67
2. Phosphation . . . . .	70
3. Carbonation . . . . .	72
4. Silikation . . . . .	71
5. Chlorion . . . . .	82
6. Jodion . . . . .	84
7. Nitration . . . . .	88

c) Sauerstoff . . . . .	93
Literatur . . . . .	98

# VIII

## B. Organischer Teil.

### a) Fettreihe.

	Seite
I. Alkohole . . . . .	105
Dulcit . . . . .	105
Mannit . . . . .	106
II. Säuren . . . . .	107
Ameisensäure . . . . .	107
Oxalsäure . . . . .	109
Weinsäure . . . . .	112
Aminosäuren (Asparagin, Leucin usw.) . . . . .	113
III. Fette . . . . .	118
IV. Wachs . . . . .	123
V. Trichomsekrete . . . . .	124
VI. Kohlehydrate . . . . .	129
Zucker . . . . .	130
Inulin . . . . .	135
Glykogen . . . . .	137
Anabaenin . . . . .	139
VII. Schwefelverbindungen . . . . .	140
Knoblauchöl . . . . .	140
Senföl . . . . .	141
Literatur . . . . .	142

### b) Aromatische Reihe.

I. Phenole . . . . .	146
Eugenol . . . . .	146
Phloroglucin . . . . .	146
Asaron . . . . .	149
Sphagnol . . . . .	150
II. Säuren . . . . .	150
Tyrosin . . . . .	150
Ferulasäure . . . . .	153
Benzoesäure . . . . .	153
Betuloretinsäure . . . . .	155
Zimtsäure . . . . .	155
Cumarin . . . . .	156
Methysteinsäure . . . . .	157
Santonin . . . . .	158
III. Aldehyde . . . . .	158
Vanillin . . . . .	161
IV. Chinone . . . . .	162
Juglon . . . . .	162
Lapachol . . . . .	165
V. Terpene, Harze und Kautschuk . . . . .	165
VI. Gerbstoffe . . . . .	172
Literatur . . . . .	177
VII. Glykoside . . . . .	181
Frangulin . . . . .	182
Hesperidin . . . . .	183
Arbutin . . . . .	185
Sinigrin . . . . .	186
Askulin . . . . .	187
Corannylin . . . . .	189
Salicin . . . . .	189
Coniferin . . . . .	190
Syringin . . . . .	191
Baptisin . . . . .	192
Amygdalin . . . . .	192

	Seite
Saponin . . . . .	197
Saponarin . . . . .	198
Glykosid (?) bei Mimosa . . . . .	200
Myriophyllin . . . . .	200
Literatur . . . . .	202
VIII. Pflanzenfarbstoffe . . . . .	205
1. Flechtensäuren und Flechtenfarbstoffe . . . . .	205
Allgemeines . . . . .	205
Über den Nachweis der Flechtensäure in der Flechte selbst . . . . .	206
a) Flechtensäuren der Tectreie . . . . .	209
a) Pulvinsäurederivate . . . . .	209
Vulpinsäure . . . . .	209
Calcin . . . . .	210
Stictamin . . . . .	210
Rhizocarpsäure . . . . .	211
Pimarinsäure . . . . .	211
β) Acetylessigsäurederivate . . . . .	211
Usninsäure . . . . .	211
b) Flechtensäuren der Benzolreihe . . . . .	212
a) Anthracenderivate . . . . .	212
Physcion . . . . .	213
Solovinsäure . . . . .	214
Rhodocladonsäure . . . . .	215
β) Orcinolderivate . . . . .	215
Lecanonsäure . . . . .	216
c) Nicht kristallisierte Flechtenfarbstoffe . . . . .	217
Arthonaviolett . . . . .	217
Urcellarinot . . . . .	217
d) Reaktionen nicht kristallisierter Flechtenfarbstoffe . . . . .	218
2. Pilzfarbstoffe . . . . .	220
Telephorsäure . . . . .	220
Xanthotametin . . . . .	220
Chinonartiger Farbstoff . . . . .	221
Carotinartige Farbstoffe . . . . .	221
Bacteriopurpurin . . . . .	221
3. Gelbe und rote Farbstoffe der Phanerogamen aus der Xanthon-, Flavon- und Anthracengruppe . . . . .	223
a) Xanthon- und Flavonderivate . . . . .	223
Gentisin . . . . .	223
Gentiolaten . . . . .	224
Datiscin . . . . .	224
Flavonderivate . . . . .	225
Rutin . . . . .	226
Scutellarin . . . . .	227
Hamatoxylin . . . . .	228
Brasilin . . . . .	228
b) Anthracenderivate . . . . .	229
Chrysophansäure . . . . .	229
Emodin . . . . .	229
Rhein . . . . .	231
Alon . . . . .	231
Morindin . . . . .	231
Ruberythrimsäure . . . . .	235
Alkannin . . . . .	238
4. Indolderivate . . . . .	239
Indol . . . . .	239
Skatol . . . . .	241
Indican . . . . .	241
5. Farbstoffe der Chromatophoren . . . . .	247
Chlorophyll . . . . .	247
Carotine . . . . .	252
Xanthophyll . . . . .	252

	Seite
Phaeophyll . . . . .	256
bei Phaeophyten . . . . .	256
„ Diatomeen . . . . .	257
„ Neottia . . . . .	258
Peridineenfarbstoffe . . . . .	259
Phykoeiythrin . . . . .	259
Phykocyan . . . . .	262
6. Anthocyane und andere Farbstoffe . . . . .	264
a) Anthocyan . . . . .	264
b) Anthophaein . . . . .	270
c) Anthochlor . . . . .	271
d) Gloeocapsin . . . . .	273
e) Scytonemin . . . . .	273
f) Bixin . . . . .	273
g) Crocin . . . . .	274
h) Curcumin . . . . .	276
i) Helichrysin . . . . .	276
j) Serratulin . . . . .	277
k) Luteofilin . . . . .	277
Anhang . . . . .	277
Chromogen in Senecioia . . . . .	278
Chromogen in Eupatorium . . . . .	278
Die schwarze Farbe . . . . .	279
Literatur . . . . .	279
IX. Alkaloide . . . . .	285
Allgemeines . . . . .	285
Spezielles . . . . .	289
1. Coniin . . . . .	289
2. Pipern . . . . .	289
3. Alkaloide der Solanaceen . . . . .	290
Nikotin . . . . .	290
Atropin . . . . .	290
Hyoscyamin . . . . .	291
Solanin . . . . .	291
4. Cocain . . . . .	291
5. Alkaloide der Leguminosen . . . . .	295
Cytisin . . . . .	295
6. Alkaloide der Papaveraceen . . . . .	295
„ von Corydalis . . . . .	299
„ „ Rabiaceen . . . . .	300
„ „ Loganiaceen . . . . .	301
Bucin . . . . .	301
Strychnin . . . . .	302
10. Alkaloide der Rhamnaceen . . . . .	301
Aconitin . . . . .	304
11. Berberin . . . . .	304
12. Hydrastin . . . . .	307
13. Colchicin . . . . .	308
14. Veratrumalkaloide . . . . .	309
15. Alkaloide der Puringruppe . . . . .	309
Kaffein . . . . .	310
Theobromin . . . . .	311
16. Alkaloide der Senf samen . . . . .	312
17. Taxin . . . . .	313
18. Alkaloide von Narcissus und Orchideen . . . . .	313
X. Eiweißkörper . . . . .	313
Nachweis . . . . .	314
XI. Fermente . . . . .	318
1. Diastase . . . . .	318
2. Oxydasen . . . . .	319

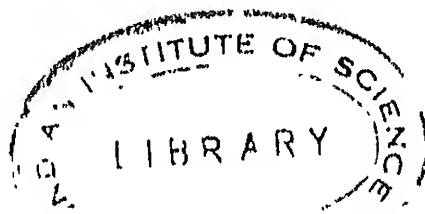
3. Cytase . . . . .	322
4. Myosin . . . . .	323
5. Emulsin . . . . .	325
Literatur . . . . .	326

## C. 1. Zellhaut.

1. Die Zellulosegruppe . . . . .	335
a) Echte Zellulosen . . . . .	336
b) Hemizellulosen . . . . .	338
Amylod . . . . .	339
Amylonysin . . . . .	340
Gelatulin . . . . .	340
Psemin . . . . .	341
2. Chitin . . . . .	341
3. Verholzte Membranen . . . . .	343
4. Verkorkte Membranen und die Kutikula . . . . .	344
Verkorkung . . . . .	344
Kutikula . . . . .	350
5. Gummi und Schleime . . . . .	351
6. Pektinstoffe . . . . .	351
7. Callose . . . . .	356
8. Phytomelane . . . . .	358
Literatur . . . . .	360

## II. Einrichtungen des Kerns, Plasmas und des Zellsafte

1. Erweißkristalle im Kern . . . . .	365
2. Erweißkristalle und Erweißgebilde im Plasma und Zellhant . . . . .	368
3. Proteinkörner . . . . .	372
4. Stärkeknäuel der Characeen . . . . .	376
5. Einrichtungen der Chromatophoren . . . . .	377
Proteinkristalle . . . . .	377
Lentikonen . . . . .	379
Pyrenoid . . . . .	379
Oleoplasten . . . . .	380
Lerke . . . . .	381
6. Floriden-Lerke . . . . .	383
7. Paramylum . . . . .	390
Lentikulären . . . . .	391
Lentikonen . . . . .	391
10. Zellulosekörner . . . . .	393
11. Zellulosekörner . . . . .	394
12. Lipidinkörper . . . . .	395
13. Elaioplasten und Ölkörper . . . . .	396
bei Monokotylen . . . . .	396
bei Dicotylen . . . . .	397
anderen Pflanzen . . . . .	399
14. Die Palargebilde der Moos . . . . .	399
15. Triebende Platten und Kugeln in Meeresalgen . . . . .	400
16. Augenleck . . . . .	401
17. Sogenannte Schleimvakuolen . . . . .	402
18. Gerbstoffblasen . . . . .	403
19. Volutin . . . . .	403
20. Künstliche Fällungen . . . . .	405
Literatur . . . . .	407
Autoneogenesen . . . . .	414
Sachgenesen . . . . .	422



## Abkürzungen

der Zeitschriftentitel in den Literatur-Nachweisen.

---

Berichte der Deutschen Botanischen Gesellschaft = Ber. d. Deutsch. Bot. Ges.  
Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft = Ber. d. d. chem. Ges.  
Biochemisches Zentralblatt = Biochem. Zbl.  
Botanische Zeitung = Bot. Ztg.  
Botanisches Zentralblatt = Bot. Zbl.  
Comptes rendus de l'Académie des sciences = Compt. rend.  
Jahresbericht d. Pharmazie = Jahrb. d. Pharm.  
Jahrbücher für wissenschaftliche Botanik = Jahrb. f. wiss. Bot.  
Justs botanischer Jahresbericht = Justs bot. Jahrb.  
MOLISCHS Beiträge zur Mikrochemie der Pflanze = MOLISCHS Beitr. z. Mikroch.  
Österreichische botanische Zeitschrift = Österr. bot. Ztschr.  
PRELÜGERS Archiv für die gesamte Physiologie = PRELÜGERS Archiv.  
Sitzungsberichte d. Kaiserlichen Akademie d. Wissenschaften in Wien. Mathem.-  
naturw. Kl. = Sitzber. d. Akad. d. Wiss. i. Wien.  
Zeitschrift für analytische Chemie = Ztschr. f. anal. Chem.  
Zeitschrift für physiologische Chemie = Ztschr. f. physiol. Chemie.  
Zeitschrift für wissenschaftliche Mikroskopie = Ztschr. f. wiss. Mikroskopie.  
Zentralblatt für Bakteriologie usw. = Zbl. f. Bakt.

A.

# ALLGEMEINER TEIL





## Einleitung.

Die Mikrochemie der Pflanze hat die Aufgabe, sehr kleine Stoffmengen in den Organen, Geweben und Zellen nachzuweisen und womöglich auch gleichzeitig ihre Lokalisation zu ermitteln. Schon mit unbewaffnetem Auge kann man an der Hand mikrochemischer Reaktionen kleine Mengen einer Substanz erkennen, aber viel kleinere noch, wenn man das Auge mit dem Mikroskop bewaffnet. Preßt man aus dem Stengel einer Brennessel (*Urtica dioica*) einen Safttropfen aus und behandelt man ihn mit einer Lösung von Diphenylamin in Schwefelsäure, so entsteht augenblicklich eine tiefblaue Färbung, die von Salpeter herrührt. Die Nitratmenge, die sich in einem solchen Tropfen vorfindet, ist sicherlich eine sehr geringe, aber die Empfindlichkeit der Reaktion kann außerordentlich verschärft werden, wenn der ganze Vorgang mit dem Mikroskop beobachtet wird, denn dann gelingt es sogar, die Salpetermenge nur einer oder einiger weniger Zellen zu eruieren. Die Empfindlichkeit der Reaktion wird durch die mikroskopische Beobachtung hochgradig, oft um das Tausendfache und noch mehr gesteigert. Wir drücken die Empfindlichkeit einer Reaktion durch die kleinste Substanzmenge aus, mit der die Reaktion noch eben sicher gelingt, und geben diese minimale Menge aus praktischen Gründen nicht in Milligramm, sondern in „Mikrogramm“  $= 1$  Millionstelgramm  $= \mu\text{g}$  oder  $\gamma$  an.

### 1. Licht- und Schattenseiten der Mikrochemie.

Die Urteile über die Bedeutung der Mikrochemie lauten verschieden. Es gibt begeisterte Anhänger, die diesem Wissenszweig eine bedeutende Zukunft prophezeien und auch das schon Geleistete hoch anschlagen, und dann gibt es Forscher, die den mikrochemischen Ergebnissen sehr skeptisch gegenüberstehen und das Um und Auf einzig und allein in der Makrochemie erblicken. Meiner Meinung nach sind die bisherigen Leistungen der Mikrochemie sowohl auf dem Gebiete der Mineralogie, Petrographie als auch auf dem Gebiete der Biologie äußerst ermutigend, doch muß sich die Mikrochemie, wenn möglich, stets auf die Makrochemie stützen und beide müssen sich gegenseitig in die Hände arbeiten. Auch dürfen die Skeptiker nicht vergessen, daß in zahlreichen Fällen wegen der Kleinheit vieler Organismen, ihrer Seltenheit und der geringen vorhandenen Substanzmengen eine Makroanalyse überhaupt nicht möglich ist, und wir daher vorläufig gezwungen sind, uns mit mikrochemischen Untersuchungen zu begnügen.

Jeder, der sich mit unserer Disziplin beschäftigt, wird bald die Vorzüge ihrer Methodik, aber auch ihre Nachteile kennen und abschätzen lernen. Von diesen Licht- und Schattenseiten soll hier zunächst die Rede sein.

a) Substanzökonomie und Empfindlichkeit. Wer die Kunst versteht, mit wenigem auszukommen und daran seine Freude findet, wird als Mikrochemiker reichlich belohnt werden, denn die Ökonomie, die er sich mit seinem Material gestatten kann, ist eine geradezu erstaunliche. Die Chlorophyllkörner der meisten Pflanzen bilden im Sonnenlichte Stärke in Form von winzigen Körnchen oder Stäbchen, die mit Jod leicht als Stärke nachgewiesen werden können. Überlegt man, daß die Zelle selbst schon ein mikroskopisches Gebilde darstellt, daß das Chlorophyllkorn als Inhaltsbestandteil der Zelle natürlich viel kleiner ist und daß dieses erst wieder die Stärkekörnchen einschließt, so leuchtet die Leistungsfähigkeit der mikroskopischen Methode in unserem Falle ohne weiteres ein. Nach einer Berechnung, die ich angestellt habe, kann man den Kubikinhalt eines im Chlorophyllkorn von Elodea befindlichen kleinen Stärkekörnchens mit  $2 \mu^3$  veranschlagen, was etwa einem Gewicht von  $3,4 \mu\text{g}$  entspricht. Eine so erstaunlich kleine Menge von Stärke kann also an Ort und Stelle in der Zelle noch erkannt werden.

Die Mengen von Chlorophyll, Anthocyan, Carotin, Holzstoff, Zellulose, Suberin und anderen organischen Stoffen, die noch mikrochemisch nachweisbar sind, gehen auf noch kleinere Werte, auf Hundertstel und Tausendstel eines  $\mu\text{g}$  und vielleicht noch weiter herunter.

Die für verschiedene Elemente von BEHRENS (I) ermittelten Empfindlichkeitsgrenzen liegen gleichfalls sehr tief:

Für Kalium bei Fällung als Chloroplatinat				bei 0,8	$\mu\text{g}$
"	Magne-	"	"		
"	sium	"	"		
"	"	"	Ammonium-Magnesium-		
"	"	"	phosphat	"	0,0012 "
"	Calcium	"	"	"	0,04 "
"	"	"	Sulfat	"	
"	Phosphor	"	"		
"	"	"	Ammonium-Magnesium-		
"	"	"	phosphat	"	0,008 "
"	Chlor	"	"	"	0,1 "
"	"	"	Thallochlorid	"	
"	Jod	"	"	"	0,17 "
"	"	"	Jodamylum	"	

EMICH (IV, 47) hat durch Einführung der Lackmusseide (vgl. p. 26) als Reagens auf Wasserstoff- und Hydroxylionen die Empfindlichkeit so überaus verfeinert, daß man Tausendstel und Zehntausendstel  $\mu\text{g}$  von Salzsäure und Natriumhydroxyd noch nachzuweisen vermag.

BEHRENS (I, 6) hat empfohlen, bei der Ausführung mikrochemischer Reaktionen mit Lösungen, zu prüfende Substanz und Reagens in möglichst konzentrierter Form anzuwenden, allein RICHTER (II) kam auf Grund genauer Untersuchungen zu einem anderen Ergebnis. Nach RICHTER erhält man gerade mit verdünnten Lösungen des Reagens die besten Resultate, weil nicht so sehr die Konzentration maßgebend ist, sondern der Umstand, daß die reagierenden Substanzen im Verhältnis der Verbindungsgewichte verwendet werden.

Beim Nachweis der Stoffe ist uns auch das Lebewesen ein wertvoller Helfer geworden, und dieses Buch enthält eine Reihe von Beweisen, daß die „biologische Methode“, d. h. die Verwendung des Lebewesens zum Nachweis von Stoffen in der chemischen Analyse häufig mit den besten gewöhnlichen chemischen und physikalischen Methoden nicht nur zu wetteifern vermag, sondern diese an Empfindlichkeit und Genauigkeit sogar übertrifft. Ich erinnere nur an den Nachweis kleiner Spuren von

Sauerstoff, die von einer einzigen grünen Zelle bei Belichtung erzeugt werden, mit Hilfe sauerstoffempfindlicher Bakterien und der Leuchtbakterien, oder an den Arsonachweis durch gewisse Schimmelpilze, an die oligodynamischen Erscheinungen zum Nachweis von Schwermetallen, z. B. von Kupfer in destilliertem Wasser durch lebende Algen. Hier spielt die außerordentliche Reizbarkeit der lebenden Substanz eine wichtige Rolle, und sie setzt das Lebewesen in den Stand, daß es die leblosen Reaktionsmittel häufig nicht nur übertrifft, sondern sogar noch da Aufschluß gibt, wo diese völlig im Stich lassen (MOLISCH V).

b) Zeitökonomie. Die mikrochemischen Manipulationen erfordern im Gegensatz zu vielen makrochemischen Untersuchungen gewöhnlich sehr wenig Zeit. Die Prüfung auf Stärke, Zellulose, Verholzung, Verkorkung, Fette, gewisse Elemente und viele andere Körper kann im Verlaufe weniger Minuten durchgeführt werden, was natürlich sehr erwünscht ist. Dazu kommt eine

c) Einfachheit der Methodik, die nicht hoch genug anzuschlagen ist. Aus dem Kapitel „Methodik“ (vgl. p. 13) geht hervor, wie einfach die ganze Apparatur des Mikrochemikers ist und wie er mit einer mäßig großen Zahl von Reagentien, die noch dazu nur in sehr geringen Quantitäten erforderlich erscheinen, und abgesehen von einem Mikroskop mit wenigen billigen Glasapparaten und Utensilien, in den meisten Fällen das Auslangen findet. So wie der Japaner sich auf einem erstaunlich kleinen Areal mit Zwergbäumchen, kleinen Felsstückchen, kleinen Wasserbecken und Wasserläufen einen Garten en miniature anlegt, so weiß auch der Mikrochemiker sein Laboratorium auf einem Arbeitstisch von mäßiger Ausdehnung unterzubringen und mit den einfachsten Mitteln in den wunderbaren chemischen Bau der Zelle einzudringen.

d) Lokalisation. Was der Mikrochemie einen ganz besonderen Wert verleiht, liegt in dem Umstande, daß sie uns nicht bloß lehrt, welche Stoffe die Zelle aufbauen, sondern auch, wo diese Stoffe liegen. Denn aus der Lokalisation einer Substanz und aus der Anordnung der Teile innerhalb der Zelle oder Gewebe kann man oft auf den Ort der Entstehung des Körpers, auf die Funktion eines Zellbestandteils und manche andere Beziehungen der Teile zueinander schließen. Man kann passend zwischen lokal und diffus verlaufenden Reaktionen unterscheiden. Lokale Reaktionen zeigen den nachzuweisenden Körper nur an seinem natürlichen Orte an, weil er mit dem Reagens eine unlösliche Verbindung gibt, die an Ort und Stelle verbleibt. Die Jodstärke-, Lignin-, Eisen-Blutlaugensalzprobe und andere der besten mikrochemischen Reaktionen gehören hierher.

Weniger wertvoll sind die diffusen Reaktionen, so genannt, weil der zu diagnostizierende Körper sich bei der Reaktion löst, aus der toten Zelle herausdiffundiert und dann nicht bloß da, wo er ursprünglich lag, sondern im ganzen Umkreis seines Diffusionsfeldes in Erscheinung tritt. Das ist eine Schattenseite einer Reaktion. Die Probe auf Nitrate mit Diphenylamin und die Zuckerreaktionen sind von dieser Art.

Wohl zu beachten sind die falschen Lokalisationen. Es kann sein, daß das eindringende, zu verdünnte Reagens schon an der Peripherie des Schnittes zur Bildung eines Niederschlages oder einer Färbung (Jodstärke) verbraucht wird und daher im Innern gar nicht mehr wirken kann. Oder der nachzuweisende Körper wird nur außerhalb des Schnittes angezeigt, weil das Reagens überhaupt nicht in

das Gewebe einzudringen vermag. Dies gilt z. B. vom Nachweis des Phosphors mit Molybdänsäure, denn diese befindet sich im Reagens nicht in echter, sondern in kolloidaler Lösung und kann daher in dieser Form nicht diffundieren. Erst wenn die Phosphorsäure aus dem toten Gewebe hervortritt, findet ihre Fällung statt. (LIESEGANG I.)

Auch können im Gewebe Stellen verschiedener Art zufällig Anziehungspunkte für Kristall- oder Niederschlagsbildung werden. Es ist daher oft gar nicht leicht, sich bei der Deutung von Lokalisierungen vor Irrtümern zu bewahren.

e) Die komplexe Zusammensetzung der Zelle trägt zur Schwierigkeit der mikrochemischen Untersuchungen wesentlich bei. Es macht einen großen Unterschied, ob ich den Nachweis eines Körpers in einem Wassertropfen oder in einer Zelle zu führen habe, denn ein Lösungstropfen ist, auch wenn er mehrere Stoffe gelöst enthält, etwas ungemein einfaches im Vergleich zur Zelle. Diese ist, um mit BRÜCKE zu sprechen, ein Elementarorganismus und besteht vielleicht aus hundert und mehr Stoffen, die wir zum Teil noch gar nicht kennen und die auf kleinstem Raume verteilt sind. Da ist die Wahrscheinlichkeit, daß der Eintritt der Reaktion durch einen oder den anderen Körper gehemmt, verhindert oder verschleiert wird, überaus groß. Dazu kommt, daß gerade in der Zelle kolloidale Körper dominieren und der Kristallisation der Reaktionsprodukte in den Weg treten.

f) Der Tod der Zelle. In der Regel muß, wenn ein Stoff in der Zelle nachgewiesen werden soll, die Zelle leider getötet werden. Denn die meisten Reagentien stellen Gifte dar, die beim Eindringen in die Zelle das Plasma töten, dadurch die Architektur der lebenden Zelle vernichten, die früher hier eventuell räumlich geordneten Stoffe durcheinander bringen und dadurch auch die Möglichkeit zur Entstehung neuer Körper schaffen. Es muß also — und dies gilt auch für die Makrochemie — stets überlegt werden, ob die Stoffe, die in der Pflanze nachgewiesen werden, auch schon in der lebenden Zelle vorhanden waren oder ob sie erst postmortal entstanden sind. Hierfür ein Beispiel. Die in unseren Gärten allgemein kultivierte Composite, *Ageratum mexicanum* Sims, enthält, solange sie lebt, kein freies Cumarin; erfriert die Pflanze oder vertrocknet sie, kurz, stirbt sie ab, dann erzeugt sie in ihrem Inneren Cumarin und duftet intensiv danach, während sie in frischem Zustande nicht eine Spur von einem solchen Duft aufweist. Viele Chemiker pflegen die bei der Analyse der Pflanze vorgefundenen Stoffe ohne weiteres auch der lebenden Pflanze zuzuschreiben — mit welchem Rechte, lehrt der Fall *Ageratum*. In diesen Fehler ist man oft verfallen, und deshalb sei hervorgehoben, daß auch zahlreiche als Genußmittel dienende Pflanzenteile (Tabak, Tee, Kaffee, Senf, Vanille) der uns wünschenswerten Eigenschaften im frischen Zustande zum großen Teil entbehren, und daß sie dieselben erst nach dem Absterben oder nach bestimmten Prozeduren (Gärung, Trocknen, Erhitzen usw.) erhalten (MOLISCH I, 2). Auch manche Farbstoffe und Spaltungsprodukte von Glykosiden entstehen oft erst postmortal, man darf daher das, was man in abgestorbenen Pflanzenteilen findet, nicht gleich auch dem lebenden Organismus zuschreiben.

g) Die Eindeutigkeit gehört zum Ideal einer chemischen Reaktion. Von diesem Ideal sind wir leider weit entfernt, denn eine Probe, die mit Sicherheit nur einen bestimmten Körper anzeigt, gehört

zu den Seltenheiten; in der Regel gehört eine Reaktion mehreren Substanzen an, so daß man aus dem Zutreffen einer Probe nicht gleich auf einen bestimmten Körper schließen kann. Wir besitzen heute kein eindeutiges Eiweiß-, Zucker-, Fett-, Gerbstoff-, Harz- oder Alkaloid-reagens, daher muß es sich der Mikrochemiker stets zur Devise machen, sich nicht etwa mit einer Reaktion zu begnügen, sondern möglichst zahlreiche Proben zu machen und neben den chemischen Eigenschaften auch die physikalischen zur Diagnose heranzuziehen.

h) Der Mangel an mikrochemischen Reaktionen für den Nachweis gewisser Körper macht sich auf Schritt und Tritt fühlbar. Wir haben für ein ganzes Meer von Substanzen, man denke nur an die zahlreichen Glykoside und Alkaloide, überhaupt wegen ihrer noch mangelhaften chemischen Erforschung keine Methodik ausgearbeitet, um sie mit Sicherheit in der Zelle zu erkennen. Wir stehen da noch ganz am Anfang, und es wird eines weiteren Ausbaues der Mikrochemie bedürfen, um hier einen Fortschritt anzubahnen.

## 2. Ergebnisse der Mikrochemie in ihrer Bedeutung für die Anatomie, Physiologie und Systematik der Pflanze.

Trotz der vielen Schattenseiten und dem heute noch vielfach unvollkommenen Zustande der Mikrochemie darf sich diese Disziplin doch rühmen, schon eine Reihe von Errungenschaften aufzuweisen, die sowohl der Botanik als auch der Chemie zugute kommen.

Die Anatomie der Pflanze hat eine wesentliche Vertiefung durch mikrochemische und makrochemische Untersuchungen erfahren, denn diese haben uns gelehrt, welche Stoffe die Zelle und Gewebe zusammensetzen und wie die Stoffe hier angeordnet und verteilt sind. Wir kennen also nicht bloß den Bau, sondern im großen und ganzen auch das Material dieses Baues nach seiner chemischen Seite und auch vielfach die Anordnung der Körper in dem winzigen Räume der Zelle. Das ist aber von großer Wichtigkeit, denn aus dem Orte der Lagerung und der Entstehung einer Substanz kann man oft wichtige Schlüsse ziehen auf die Funktion eines Zellorgans. Wir wissen, daß das Chlorophyllkorn das Organ der Produktion organischer Substanz ist und daß in diesem mikroskopisch kleinen chemischen Laboratorium aus Kohlensäure und Wasser im Lichte Stärke entsteht. Wir wissen dies, weil wir die Stärke unter den Bedingungen der Kohlensäureassimilation im Chlorophyllkorn entstehen sehen und an Ort und Stelle mikrochemisch nachweisen können.

Der Kork hat im Leben der Pflanze eine wichtige Aufgabe zu erfüllen, er ist unter anderem ein ausgezeichnetes Schutzmittel gegen allzu starke Transpiration. Das nähere, tiefere Verständnis dieser physiologischen Leistung datiert aber erst seit jenem Augenblicke, da es gelungen war, mikrochemisch in einer bestimmten Lamelle der Korkzellenwand fettartige Körper festzustellen, die die Membran für Wasser und andere Stoffe schwer durchlässig machen. Dasselbe gilt auch von der Kutikula, die eine ähnliche chemische Zusammensetzung hat wie die Korklamelle.

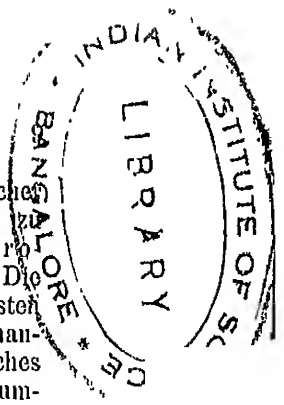
Auch die Wanderung und die Umwandlung mancher Stoffe kann auf mikrochemischem Wege aufgedeckt werden. Der Übergang von Eiweiß in Aminosäuren, von Zucker in Stärke oder Fett und umgekehrt,

wie er uns bei der Keimung der Samen, Knollen und beim Austreiben der Gehölze entgegentritt, kann unterm Mikroskop beobachtet werden.

Die Mikrochemie darf sich auch das Verdienst zuschreiben, daß sie da, wo die Makrochemie in Anbetracht allzu geringer Substanzmengen versagte, die Natur gewisser Stoffe zuerst aufdeckte. Die Natur des Phykoerythrins und des Phykoeyans wurde zuerst mikrochemisch aufgeschlossen; die mikroskopischen Beobachtungen HANAUSEKS (I) über Phytomolane haben zur Entdeckung einer ungemein kohlenstoffreichen Körpergruppe geführt. Der mikroskopische Nachweis der Holzsubstanz durch WIESNER (II) und der des Suberins durch v. HÖHNEL (I) haben den Anstoß zur genaueren makrochemischen Untersuchung des Holzes und des Korkes gegeben.

In neuerer Zeit bricht sich auch immer mehr die Anschauung Bahn, daß die Mikrochemie auch bei der Erkennung von vegetabilischen Nahrungs-, Genußmitteln, Rohstoffen und Drogen von Nutzen sein kann, ein Gedanke, der von verschiedenen Forschern (HANAUSEK, A. MEYER, J. MOELLER, MOLISCH, NESTLER, TSCHIRCH, TUNMANN, VOGL, v. WIESNER usw.) ausgesprochen oder zur Tat gemacht wurde. „Derartige Untersuchungen dürften aus mehrfachen Gründen von Bedeutung sein, unter anderem deshalb, weil — ganz abgesehen davon, daß hierdurch ein Beitrag zu der noch im Argen liegenden Histochemie der Pflanze überhaupt geschaffen wird — sie dem Chemiker bei der Darstellung gewisser Substanzen willkommene Anhaltspunkte bieten können, die ihm Zeit und Mühe ersparen, und ferner, weil auch dem Mikroskopiker mikrochemische Reaktionen in die Hand gegeben werden, die seine, auf dem anatomischen Befund gestützte Diagnose zu stützen vermögen“ (MOLISCH I, 1). Treffend sagt auch TUNMANN (II, 18): „Mit Recht wird in neuerer Zeit immer wieder von den verschiedensten Seiten darauf hingewiesen, daß in den weitaus meisten Fällen die wirksamen Bestandteile der Drogen in den Zellinhalten liegen, und da ist es nur eine logische Folge, daß auch beim mikroskopischen Studium der Drogen die Zellinhalte mehr Berücksichtigung finden müssen, mit anderen Worten, daß die angewandte Pflanzenmikrochemie weit mehr als bisher in den Vordergrund rücken muß. — Bei der Untersuchung der Pflanzenpulver wird schließlich die angewandte Pflanzenmikrochemie auch entgegen der Ansicht Einzelner immer mehr an erste Stelle rücken, da nur mit ihrer Hilfe bei Materialersparnis ein Urteil über die Beschaffenheit der betreffenden Pulver möglich ist und nur mit ihrer Hilfe Pulver zu diagnostizieren sind, bei denen die jetzt vielfach übliche, zu weit gehende Zerkleinerung die anatomischen Charaktere völlig zerstört hat. Und so wird die Zeit kommen, in der mikrochemische Methoden auch in den Arzneibüchern Eingang finden werden und der Safran nicht mehr der berühmte weiße Rabe sein wird.“

Einen nicht unwichtigen Dienst leisteten die Mikro- und Makrochemie der Pflanzensystematik, indem sie zeigten, daß die Verwandtschaft der Pflanzen sich auch in ihrem Chemismus ausdrücken kann. Darüber haben sich bereits zahlreiche Forscher, CZAPEK (I, 260), GRAFE (I, 423), GRESHOFF (I), LINNÉ, ROCHLEDER (I, II), SOLEREDER (I, II), TAMMES (I), THOMS (I), TSCHIRCH (I), v. WETTSTEIN (I), v. WIESNER (I), ZELLNER (I und II), ZOPF (I) und andere geäußert.



Es ist nicht meine Absicht, diesen in allgemein naturwissenschaftlicher Beziehung so wichtigen und interessanten Gegenstand ausführlich zu behandeln, sondern es soll nur das, was hauptsächlich die Mikrochemie geleistet hat, mit einigen Worten kurz berührt werden. Die Samen und vegetativen Organe zahlreicher Cruciferen und ihre nächsten Verwandten, die Rosaceen, Capparideen, Tropaeolaceen und Limnathaceen führen in bestimmten Zellen ein Ferment, das Myrosin, welches das in den Zellen vorhandene Sinigrin in Zucker, Senföhl und Kaliumbisulfat zu spalten vermag. Die zwischen den genannten Pflanzenfamilien bestehende Verwandtschaft, die man in der Systematik auf Grund ganz anderer, meist morphologischer Eigenschaften festgestellt hat, erhält durch das Vorkommen der hier so häufig auftretenden Myrosinzellen eine neue Stütze. — Das Inulin ist in der Familie der Kompositen ein ungemein verbreitetes Kohlehydrat, das jedenfalls zu den charakteristischen Eigenschaften dieser so arten- und gattungsreichen Abteilung gerechnet werden darf, wenn es auch in anderen, damit nicht verwandten Familien (Campanulaceen, Lobeliaceen, Goodeniaceen) und sogar bei einigen Monokotylen (*Leucosium vernum*, *Galanthus nivalis*) auftritt.

Die Ruberythrinssäure, ein in den unterirdischen Teilen gewisser Rubiaceen vorkommendes Derivat des Anthracens, wurde bisher nur in dieser Familie konstatiert, und ich konnte es speziell in der Reihe der Stellatae überall, wo ich danach suchte, mikrochemisch nachweisen.

Noch einige andere Farbstoffe erscheinen auf ganz bestimmte Familien beschränkt: so das Alkanin auf die Boraginaceen, das Phykoerythrin und Phykocyan auf die Rot- und Blaualgen und das Skutellarin auf gewisse Labiatae.

Charakteristisch für die Membran der Pilze erscheint das Chitin. Wie die Zellulose bei den meisten anderen Pflanzen das Grundgerüst der Zellhaut bildet, so das Chitin bei den Pilzen. Es kommt zwar Zellulose auch in vielen Pilzmembranen vor, aber das Chitin bildet doch in den genannten Pflanzengruppen den Hauptbestandteil der Membran.

Für die Beschreibung und Erkennung eines Pflanzenobjektes kann nicht bloß die Anatomie des Gewebes, sondern auch die Morphologie seiner Asche herangezogen werden, da das Aschenbild entweder durch sein Zellenskelett oder durch bestimmte Inhaltskörper oder Leitfragmente und ihre bestimmte Anordnung für jede einzelne Pflanzenart sehr charakteristisch ist (MOLISCH IV).

Dadurch, daß die Zellwände hochgradig verkieseln oder verkalken oder sowohl verkieseln als auch verkalken, bleiben die Gewebe nach ihrer Veraschung in ihrer zellularen Struktur scheinbar so gut erhalten, daß man glaubt, das noch intakte Gewebe vor sich zu haben. Dazu kommen dann häufig noch Haare und verschiedene in der Asche wohl erkennbare Inhaltskörper, z. B. mannigfach geformte Kristalle, Zystolithen, Kieselkörper, und zwar oft in so charakteristischer Anordnung, daß man in dem so zustande gekommenen Aschenbild oder Spodogramm einzelne Familien, Gattungen oder Arten erkennen kann.

Man könnte vielleicht einwenden: Wozu benötige ich die Asche, wenn mir das Gewebe zur Verfügung steht? Das Gewebe zeigt doch mehr als die Asche. Gewiß bietet das Gewebe Einzelheiten, z. B. im Zellinhalt, die bei der Veraschung zerstört werden und die daher in



der Asche nicht mehr gesehen werden können, aber andererseits bietet die durch einfaches Verbrennen rasch gewonnene Asche oft in größerer Klarheit und in besserer Übersicht gewisse besondere morphologische Verhältnisse.

Wer einen raschen Überblick über die Verteilung der Zystolithen (Fig. 1) bei den Acanthaceen und Urticaceen haben will, wird ihn leicht und ausgezeichnet an der Hand von Aschenpräparaten gewinnen (NAUMANN I). Die Gramineen sind durchwegs durch das Vorhandensein der solid verkieselten Kieselkurzzellen (Fig. 2), die Cyperaceen stets durch die eigenartig geformten, verkieselten Kegelzellen (Fig. 3) und viele Orchideen, die Marantaceen, Musaceen und Palmen durch die als Deckplättchen oder Stigmata bekannten Zellen mit bestimmt

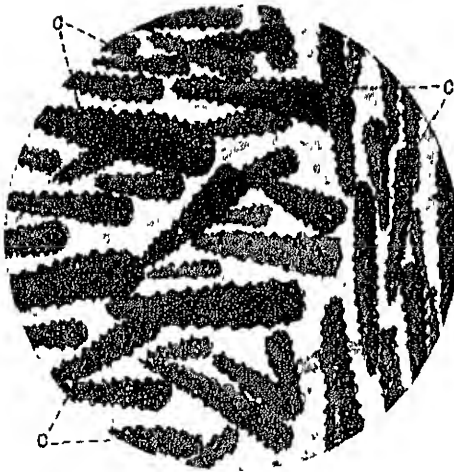


Fig. 1.

*Strobilanthes isophyllus*. Aschenbild des Blattes. Die Asche besteht größtenteils aus maikolbenähnlichen Zystolithen. Die meisten liegen quer zur Längsachse des Blattes, die oberhalb der Blattnerven befindlichen liegen parallel dem Nerven und sind schmaler.

Vergr. 60.

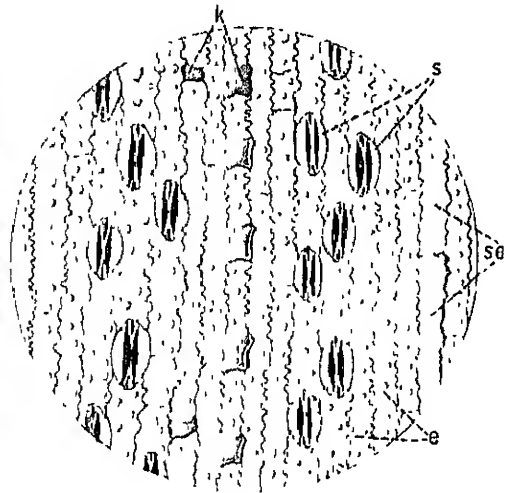


Fig. 2.

*Bambusa* sp. Aschenbild nach Behandlung der verkieselten Epidermisasche mit Salzsäure. Man glaubt ein intaktes Gewebe zu sehen. *s* Spaltöffnungen, *e* wellig kontourierte Epidermiszellen, von denen manche *se* mit Kieselsäure vollends erfüllt sind, und *k* die Kieselkurzzellen.

Vergr. 285.

geformten Kieselkörpern, manche Familien durch Raphidenbündel oder Kristallsand ausgezeichnet. Ja sogar große und auffallend gestaltete Einzelkristalle von Kalkoxalat können für Vertreter einer ganzen Familie bezeichnend sein, wie die mächtigen Kalkoxalatspieße der Irideen.

Alle diese Leitfragmente treten aber in der Asche mit viel größerer Deutlichkeit und Übersichtlichkeit hervor als im Gewebe, zumal sie bei der Veraschung auf ein kleineres Volum zusammenrücken und so leichter sichtbar werden. Die Zystolithen, Kieselkurzzellen und Kegelzellen stellen einen Familiencharakter dar, der sich in der Asche in besonders prägnanter Weise zu erkennen gibt.

Wenn man die modernen Bücher über Pharmakognosie, Drogen, Nahrungs- und Genußmittel und andere Rohstoffe des Pflanzenreichs durchblättert, so ist hier vom Aschenbild kaum die Rede, und doch würde das Spodogramm die Beschreibung des zugehörigen Objektes in vielen Fällen wesentlich ergänzen und durch die Herbeiziehung des Aschenbildes in vielen Fällen die Erkennung des Objektes sowie die Feststellung seiner Echt- oder Unechtheit sicherlich erleichtern. Ja bei der Diagnostizierung prähistorischer Pflanzenaschen würde die mikroskopische Untersuchung der Asche überhaupt die wichtigsten, wenn nicht sogar die einzigen Erkennungsmittel bieten (NETOLITZKY III).

Mit anderen Worten: Wie die Form und die Stellung des Blattes, der Bau der Blüte, die Zahl der Staubgefäße und die Form der Samenanlage für diese oder jene Pflanzenfamilie oder Gattung charakteristisch ist, so kann in zahlreichen Fällen auch die Morphologie der Asche oder das Spodogramm einen Hinweis abgeben für die systematische Stellung der die Asche liefernden Pflanze. Dies sollte in Zukunft mehr beachtet werden als dies bisher geschehen ist.

Von nicht geringem Interesse ist die Tatsache, daß gewisse sonst sehr verbreitete Stoffe in bestimmten Bezirken des Pflanzenreichs überhaupt fehlen. Man hat bisher in keiner Diatomee und Cyanophyceae Stärke aufgefunden. Keine Diatomee enthält Kristalle von oxalsaurem Kalk. Auch entbehren, wie WIESNER (I) und seine Schüler gezeigt haben, die Algen, Pilze, Flechten und Moose vollends des Lignins. Die Verholzung der Membran hebt erst bei den Pteridophyten an und erscheint dann ausnahmslos bei allen phanerogamen Pflanzen. Auch die Verkorkung taucht erst bei einer gewissen Entwicklungsstufe auf; sie fehlt allen Thallophyten und Moosen und findet sich erst bei einzelnen Pteridophyten vor, um dann bei Blütenpflanzen regelmäßig zu erscheinen.

Den behandelten Fällen treten dann andere gegenüber, die den Anschein erwecken, als ob sie dem Satze von der chemischen Verwandtschaft zusammengehöriger Pflanzen widersprechen würden. Ich erinnere an die Indigopflanzen. Unter den Cruciferen gibt es nur eine einzige Indigo liefernde Gattung, *Isatis*, den Waid. Der blaue Farbstoff entsteht hier aus einer nicht näher erforschten Indoxylverbindung. Auch bei den nächsten Verwandten der Kreuzblütler taucht nirgends die Muttersubstanz des Indigo auf, und Indikanpflanzen finden

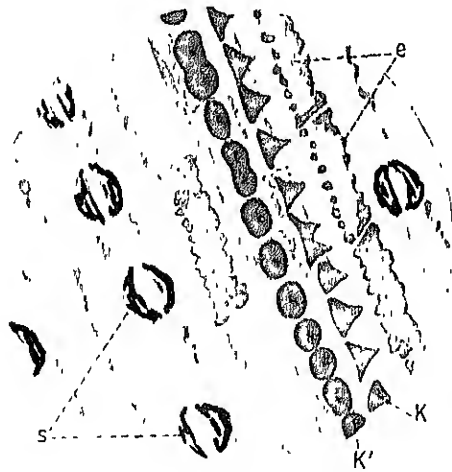


Fig. 3

*Carex silvatica* Blattasche nach Behandlung mit Salzsäure. e Epidermiszellen, s Spaltöffnungen, k Kegelzellen in der Seitenansicht, k' Kegelzellen in der Aufsicht. Vergr. 285.

wir erst wieder bei Leguminosen (Indigofera), Orchideen, Apocynen und Asclepiadeen und hier auch nicht durchwegs bei allen Gattungen, sondern nur bei einzelnen und innerhalb der Gattung oft auch nur bei einzelnen Arten (MOLISCH II, III). Daraus aber den Schluß zu ziehen, daß die natürliche Verwandtschaft nicht auch auf einer chemischen basiert, wäre voreilig, denn man darf nicht vergessen, daß wir in dem Falle Indigo nur einen einzigen Stoff als Maßstab verwerten. Würden wir die Chemie der Cruciferen nach ihrer gesamten Zusammensetzung bis in die feinsten Details überschauen, so würde sich sicherlich auch hier die Verwandtschaft der Gattungen und Arten in ihrem Chemismus spiegeln. Wenn also eine Gattung einen bestimmten Stoff bildet, eine andere nicht, so darf daraus nicht gleich auf eine tief einschneidende, totale chemische Verschiedenheit geschlossen werden, denn es ist sogar möglich, daß die Cruciferen, wenn auch nicht alle, so doch eine größere Anzahl, eine gemeinsame Vorstufe des Indigoblau enthalten, die aber nur bei *Isatis* sich bis zum Indigoblau aufbaut. Ich stelle mir die Sache analog vor, wie bei Hämoglobin und Chlorophyll, diesen auf den ersten Blick so verschiedenen Farbstoffen des Pflanzen- und Tierreichs, die aber doch einen gewissen Atomkern gemeinsam haben und damit auf eine einheitliche Wurzel hindeuten. Die Alkaloide geben uns nach dieser Richtung interessante Fingerzeige, worauf FALTIS (I) aufmerksam gemacht hat. Die Monispermaceae, Berberideae, Papaveraceae, Fumariaceae und einige andere nahestehende Gruppen führen einige Alkaloide, deren Ähnlichkeit im Bau bereits erkannt ist. Er meint das Papaverin, Narkotin, Berberin, Corydalin, dann Morphin, Codein, Thebain und zahlreiche andere, deren Konstitution noch nicht ganz klar gelegt ist, die aber sicher hierher zu rechnen sind. Nach FALTIS lassen sich alle diese Basen ungezwungen von einer bestimmten gemeinsamen Stammsubstanz ableiten, wodurch die natürliche Verwandtschaft der genannten Familien auch ihren chemischen Ausdruck findet. Dieser Zusammenhang wird um so mehr zutage treten, einen je tieferen Einblick wir in den Chemismus der Pflanze und des Tieres gewinnen werden, und er wird dann auch dort in Erscheinung treten, wo er bisher verschleiert blieb

---

Anschließend sei hier noch auf jene zusammenfassenden Werke hingewiesen, die in diesem Buche oft benutzt worden sind und die jeder Mikrochemiker gern zu Rate ziehen wird.

ABDERHALDEN, E., Biochemisches Handlexikon I—IX. Bd. 1911 bis 1915.

BEHRENS, W., Hilfsbuch zur Ausführung mikroskopischer Untersuchungen usw. Braunschweig 1888.

BEHRENS, H., Mikrochemische Analyse organischer Verbindungen. Heft I—IV. 1895—1897. Ferner Anleitung zur mikrochemischen Analyse. 2. Aufl. Hamburg und Leipzig 1899 und Mikrochemische Technik. Hamburg und Leipzig 1900.

BEHRENS, H. — KLEY, P. D. C., Mikrochemische Analyse. Leipzig und Hamburg 1915. 1. und 2. Teil.

CZAPEK, F., Biochemie der Pflanzen. 2. Aufl., I. Bd. 1913, II. Bd. 1920, III. Bd. 1921. Jena.

DONAU, J., Die Arbeitsmethoden der Mikrochemie usw. Handbuch der mikrochemischen Technik, herausgegeben von der Redaktion des

- „Mikrokosmos“. IX. Teil. 1913/14. Stuttgart, buchhandlung.
- EMICH, F., Lehrbuch der Mikrochemie. Wiesbaden 1911.
- EULER, H., Grundlagen und Ergebnisse der Pflanzenchemie. 2 Bde. Braunschweig 1908—1909.
- FÜRTII, O. v., I. Vgl. chem. Physiologie d. nied. Tiere. Jena 1903.
- GRAFE, V., Einführung in die Biochemie usw. Leipzig und Wien 1913.
- MEYER, H., I. Analyse und Konstitutionsermittlung organischer Verbindungen. Berlin 1909. 2. Aufl.
- MOLISCH, H., Grundriß einer Histochemie der pflanzlichen Genußmittel. Jena 1891.
- POULSEN, V. A., Botanische Mikrochemie. Übersetzt von C. Mäller. Kassel 1881.
- RICHTER, O., Die Fortschritte der botanischen Mikrochemie seit Zimmermanns „Botanischer Mikrotechnik“, Sammelreferat. Zeitschr. f. wiss. Mikroskopie usw. 1905. Bd. XXII. p. 194—261.
- ROSENTHALER, L., Die chemische Analyse. 19./20. Bd. Der Nachweis organischer Verbindungen. Stuttgart 1914.
- STRASBURGER, E. — KOERNICKE, M., Das Botanische Praktikum. 5. Aufl. 1913, Jena.
- TSCHIRCH, A., Angewandte Pflanzenanatomie. Wien u. Leipzig 1889. — Handbuch der Pharmakognosie. Leipzig 1909—1913.
- TUNMANN, O., Pflanzenmikrochemie. Berlin 1913.
- WEINER, C., Die Pflanzenstoffe etc. Jena 1911.
- WIESNER, J., Die Rohstoffe des Pflanzenreiches. 2. Aufl. 1900 und 1903. Leipzig.
- ZIMMERMANN, A., Die Botanische Mikrotechnik. Tübingen 1892.

## Methodik.

Die Hilfsmittel, deren der Mikrochemiker bedarf, sind im allgemeinen von verbluffender Einfachheit. Eine kleine Menge Substanz, Bruchteile eines Milligramms, ja oft eine Spur, genügen zur Ausführung einer Reaktion. Die nötige Apparatur läßt gleichfalls an Einfachheit nichts zu wünschen übrig. Abgesehen vom Mikroskop ist bei gewöhnlichen mikrochemischen Untersuchungen das meiste der nötigen Utensilien und Reagentien um einen relativ geringen Preis zu haben, im Gegensatz zu makrochemischen Analysen, die einen viel größeren Aufwand erfordern.

### 1. Instrumente und Utensilien.

a) Das Mikroskop. Ich beabsichtige nicht, hier eine Theorie des Mikroskops und die Schilderung seiner Handhabung zu geben, da ich beide als bekannt voraussetze. Es sei nur folgendes betont: Das Mikroskop gehört zu den unerlässlichsten und wichtigsten Hilfsmitteln des Mikrochemikers und gestattet bei mehr oder minder starken Vergrößerungen den Verlauf der Reaktion, der Kristallisation, der Lösung und das fertige Reaktionsprodukt oft in der Zelle zu beobachten, was von unschätzbarem Vorteil erscheint. Es ist meist gar nicht notwendig,

mit starken Vergrößerungen zu arbeiten. Eine Vergrößerung von 50 bis 300 reicht gewöhnlich aus. Die Verwendung von Immersionslinsen gehört zu den Seltenheiten. Bei Anschaffung eines Mikroskops wende man sich nie an einen gewöhnlichen Optiker, sondern stets an eine renommierte Firma. Ein Instrument mit 2 bis 3 Objektiven, dem dazu gehörigen Revolver und zwei Okularen wird in der Regel genügen. Eines von den Okularen soll ein Mikrometerplättchen enthalten. Das Stativ soll möglichst einfach gebaut, doch auch zur Aufnahme der Nikolschen Prismen für die Beobachtung im polarisierten Lichte geeignet sein. Man verwende nicht unnötigerweise starke Vergrößerungen, denn mit der Vergrößerung nimmt die Farbenintensität einer Reaktion für das Auge ab, außerdem wird die Fokaldistanz kleiner, womit die Gefahr einer Annäherung der wertvollen Objektivilinse an den Reagentstropfen wächst. Überhaupt ist die Objektivilinse vor Benetzung und Dämpfen möglichst zu bewahren, schließlich nach der Arbeit mit destilliertem Wasser zu reinigen und mit Filtrierpapier und einem feinen Hirschlederlappen trocken zu wischen. Vor Staub ist das Mikroskop durch einen Glassturz zu schützen.

b) Lupe. Eine gute Handlupe, die 5—10mal vergrößert, leistet gute Dienste, wenn es gilt, ein Objekt bei ganz schwacher Vergrößerung im Übersichtsbilde zu beobachten.

c) Objektträger. Man versteht darunter durchsichtige, rechteckige Platten aus Spiegel- oder gewöhnlichem Glas, am zweckmäßigsten 76 mm lang, 26 mm breit und 1—1,5 mm dick. Die meisten mikrochemischen Reaktionen werden auf solchen Objektträgern ausgeführt. Kleinere Formate sind nicht zu empfehlen, weil sonst für die Etiketten, für die Ausführung der Reaktion und die ganze Handhabung zu wenig Raum übrig bleibt. Für gewisse Reaktionen, z. B. für den Kiesel-säurenachweis, wo Fluorwasserstoff, Kieselfluorwasserstoff oder Fluor-ammonium zur Anwendung gelangen, bedient man sich gefirnisster Objektträger. Sie sind mit einer dünnen Schicht Kanadabalsam überzogen. Kanadabalsam wird in einer Abdampfschale so lange erhitzt, bis er sich nach dem Erkalten pulvern läßt. Das Pulver löst sich in Benzin zu einem öligen Firnis, und mit diesem wird der gelinde erwärmte Objektträger übergossen. Man läßt abtropfen und schließlich bei etwa 50° 4 Stunden lang trocknen. Anstatt der gefirnissten Objektträger kann man auch mit Vorteil dünne Platten von nahezu farblosem Zelluloid verwerten, die käuflich zu haben sind (II. BEITRENS, I, 17).

d) Deckgläschen. Die im Tropfen auf dem Objektträger liegenden Schnitte werden der Klarheit des mikroskopischen Bildes wegen und um die Berührung der Objektivilinse des Mikroskops mit der Präparierflüssigkeit zu verhindern, zumeist mit einem sehr dünnen Glasplättchen, dem Deckgläschen bedeckt. Format 18×18 mm. Dicke für schwächere Vergrößerungen 0,2 mm, für stärkere und stärkste 0,15—0,1 mm und darunter. Man hüte sich, kleinere Formate zu verwenden, denn diese haben verschiedene Nachteile. Für gewisse Zwecke, namentlich bei Gewinnung von Kristallen aus verdünnten Lösungen unterm Deckglas, empfehlen sich größere Formate (20×30 mm), weil unter einem solchen Deckglas mehr Flüssigkeit Platz hat und damit die Wahrscheinlichkeit, Kristalle zu erhalten, wächst.

e) Glasdosen mit und ohne angeschliffenem Falz in verschiedenen Größen. Sie dienen zum Einlegen der Schnitte in bestimmte Flüssigkeiten. Durch die Dosen wird die Verdampfung der Flüssigkeit verhindert und der Staub abgehalten. Es ist zweckmäßig, auch die Objektträger und Deckgläschen in solchen Dosen aufzubewahren, um sie vor Staub zu schützen.

f) Rasiermesser. Der Botaniker führt seine mikrochemischen Untersuchungen meist an Schnitten aus, die mit dem Rasiermesser gemacht werden. Man hält solche mit flacher oder hohler oder unterseits flacher und oberseits hohler Klinge vorrätig.

g) Skalpelle. Handelt es sich darum, an einem harten Objekte, z. B. an einem Holz oder einem Samen eine glatte Schnittfläche zu erzielen, überhaupt das Objekt für die weitere Behandlung zu recht zu schneiden, so bedient man sich kleiner Messerchen, der Skalpelle.

h) Nadeln dienen dazu, die Schnitte vom Rasiermesser auf den Objektträger zu bringen, hier zu ordnen, zu zerzupfen oder in eine Glasdose zu bringen und hier aus einer in die andere Flüssigkeit zu übertragen. Die Präpariernadeln sind gewöhnlich aus Metall und unbeweglich in ein hölzernes Heft gefaßt. Sehr häufig verwendet man anstatt der Metallnadeln Glasnadeln,

die man sich nach Beheben durch Anziehen von Glasröhren oder Glasstäbchen in der Flamme in verschiedener Größe herstellt. Prüft man z. B. Schnitte auf Eisen, so darf man selbstverständlich nicht mit Stahlnadeln arbeiten, da ja durch sie leicht Eisenspuren in die Gewebe hineingelangen können.

i) Pinzetten aus Stahl, Messing oder Neusilber, die bei mikroskopischem Arbeiten so häufig benutzt werden, müssen bei mikrochemischem Arbeiten häufig durch Glasnadeln ersetzt werden, um die Gefahr einer Verunreinigung mit einem Metall zu verhindern.

j) Tropf- oder Stiffläschchen. Gewöhnlich werden die zu prüfenden Schnitte in einen Tropfen der Präparationsflüssigkeit gelegt. Um diesen Tropfen bequem auf den Objektträger zu bringen, bedient man sich der in Fig. 4 abgebildeten Gläsern. Nimmt man den bis fast an die Basis des Gläschens sich erstreckenden Glasstößelstift (A) aus der Flüssigkeit heraus, so bleibt stets ein Tropfen von

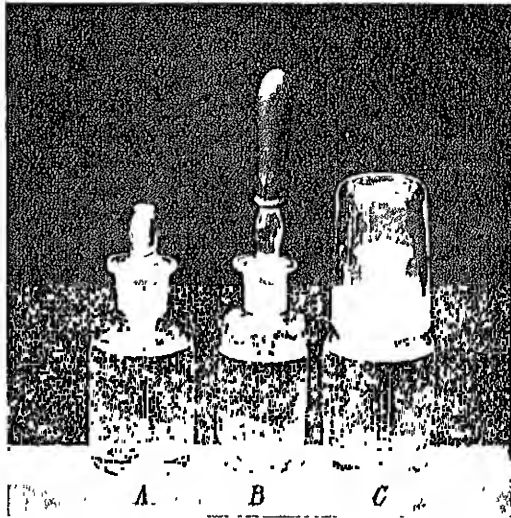


Fig. 4

Tropfgläser oder Stiffläschchen  
A mit solidem Glasstift, B mit Glasrohrstift und Kautschukkappe, C mit solidem Glasstift und Glas-  
kappe. Etwa 1, verkleinert

annähernd derselben Größe hängen, der dann auf den Objektträger abgestreift werden kann. Anstatt des soliden Glasstiftes gebraucht man auch häufig einen hohlen Glasstopfen, der unten in eine Glasröhre endigt und oben mit einer Kautschukkappe verschlossen ist (B). Drückt man diese etwas zusammen, so treten Flüssigkeit und Luft aus dem Röhrchen heraus, bei Loslassen der Kappe aber wieder hinein. Hebt man nun den Stift aus dem Fläschchen heraus, so lassen sich aus der Röhre durch einen Druck auf die Kappe ein, zwei oder mehr Tropfen, je nach Bedarf, auf den Objektträger bringen. Diese Stiftfläschchen gehören zu den wichtigsten Utensilien des Mikrochemikers. Die meisten flüssigen Reagentien werden in solchen Fläschchen untergebracht. Flüssigkeiten, die sich leicht verflüchtigen, Dämpfe entwickeln oder Wasser anziehen, werden mit einer aufgeschliffenen Glaskappe versehen (C). Gegenwärtig erhält man auch Tropfgläser aus blauem oder braunem Glas für lichtempfindliche Reagentien. Die Gläser werden auf einer Glasplatte oder einer glasierten Tonschale aufgestellt und mit einem Glassturz bedeckt.

k) Glasstäbe, Glasröhren, Glaspipetten und Uhrgläser in verschiedenen Dimensionen sollen auf dem Arbeitstisch des Mikrochemikers nie fehlen, da sie häufig benötigt werden. Um mit relativ sehr kleinen Reagenströpfchen zu arbeiten, eignen sich sehr schmale Pipetten, Kapillarpipetten von 0,2—1 mm innerer Breite, die man durch Ausziehen in der Flamme leicht herstellen und nach dem Gebrauch wegwerfen kann. Mit so kleinen Tröpfchen, wie man sie aus derartigen Kapillaren erhält, kann man ein und dasselbe Mikrosublimat vielfach prüfen und so mit einem Minimum von Substanz viele Reaktionen durchführen.

l) Filtrierpapierstreifen leisten treffliche Dienste, wenn es gilt, Flüssigkeiten unter dem Deckglas abzusaugen oder Flüssigkeitsströmungen zu erzeugen, um den Schnitt mit einem Reagens rascher in Berührung zu bringen oder zu durchspülen.

m) Brenner. Ein gewöhnlicher Bunsenbrenner, ein Bunsenmikrobrenner mit einem Flämmchen von 1—2 cm Höhe und ein Sparbrenner mit doppelter Gaszuführung, der nach dem Anlöschen der großen Flamme ein kleines Flämmchen gibt, werden viel gebraucht.

n) Eine kleine Spritzflasche mit destilliertem Wasser, Drahtnetz mit und ohne Asbesteinlage, ein Platindraht, eingeschmolzen in einen Glasstab, ein Platinblech (4×4 cm), Objektträger mit aufgelegtem Glasring für Mikrosublimation (vgl. p. 26) und Pinsel gehören gleichfalls zu den Bedürfnissen des Mikrochemikers.

Einige andere Apparate und Utensilien, die besonderen Zwecken dienen, sollen später besprochen werden.

## 2. Reagentien.

Die Zahl der für die botanische Mikrochemie nötigen Reagentien ist, wenn man alle Bedürfnisse in Betracht zieht, eine recht große, in Wirklichkeit aber für mikrochemische Untersuchungen gewöhnlicher Art eine relativ beschränkte. Hierzu kommt, daß man von jedem Reagens nur sehr wenig braucht. Im folgenden soll zunächst eine Übersicht über die Reagentien und im Anschluß daran die Bereitungsweise einiger besonders wichtiger oder komplizierterer gegeben werden. Wer Interesse

für ausgedehntere Angaben hat, sei aufmerksam gemacht auf Mercks (I) Reagentienverzeichnis.

a) Übersicht über die Reagentien.

Aceton	Chromsäure + Schwefel-	Kobaltnitrat
Alaun	säure	Kobaltnitrit
Alkalischblau	Congorot	Kresol
Alkannatinktur	Coniferin	Kupferacetat
Alkohol (Äthyl-) absol. und	Corallin	Kupferoxydammoniak
gewöhnlicher	Cucumarpapier	Kupfersulfat
Alloxan	Cyanin (Chinolinblau)	Lackmus
Aluminiumchlorid	Deltapurpurin	Lackmuspapier
Ameisensäure	p-Diazobenzolsulfosäure	Lackmussolde
Ammoniak	p-Dimethylaminobenzaldehyde-	Lugrin
Ammoniumchlorid	hydrolösung	Magnesiumsulfat
Ammoniumhydrogensulfid	Dimethylparaphenylendiamin	Malachitgrün
Ammoniumkarbonat	Diphenylamin	Metadiamidobenzol
Ammoniummolybdat	Diphenylanilodihydrotriazol (Nitron)	Methylenblau
Ammoniumoxalat	Eau de Javelle	Methylgrün
Ammoniumphosphat	Eisenchlorid	Methylphenylhydrazin
Ammoniumsulfat	Eisenoxydsulfat	Miltons Reagens
Ammoniumvanadat	Eisenoxydsulfat	Molische Reagens (α-Naph-
Anethol	Eisessig (Essigsäure)	tol + SO <sub>2</sub> H <sub>2</sub> )
Anilin	Eosin	Monokaliumsulfat
Anilinblau	Eugenol	α-Naphthol
Anilinsulfat	Fehlingsche Lösung	Naphtholschwarz
Anilinviolett	Fluorwasserstoff	Naphtylamin (α und β)
Amaldehyd	Fuchsin	Naphtylenblau
Amisol	Gentianaviolett	Natrumacetat
Anthokyan	Glyzein	Natrumbikarbonat
Antimonchlorid	Goldchlorid	Natrumchlorid
Asparagin	Guajaklösung	Natrumhydrogensulfat
Äther (Äthyl-)	Guajakol	Natrumhydroxyd
Bariumchlorid	Gummilösung	Natrumhypochlorit
Bariumhydroxyd	Hämatoxylin	Natrumkarbonat
Benzidin	Javellesche Lauge	Natrumkobaltnitrit
Benzol	Indigblau	Natrummolybdat
Benzopurpurin	Indol	Natrumnitrit
Bismarekbraun (Vesnyu)	Jod	Natrumphosphat
Bleiacetat	Jodalkohol (Jodtinktur)	Natrumseleat
Borax	Jodglyzerin	Natrumwolframat
Brenzcatechin	Jodjodkaliumlösung	Nebblers Reagens
Brillanthblau	Jodwasser	Neutralrot
Brillanterocem	Jodchlorcalciumlösung	Nickelsonblau 6 B
Bromwasser	Jodchlorzinklösung	Nickelacetat
Bromkalium	Kaliumchlorat	Nigrosin
Brucin	Kaliumbichromat	Ninhydrin
Calciumacetat	Kaliumferrocyanid	Nitron
Calciumhydroxyd	Kaliumferrosulfat	Nitroprussidnatrium
Calciumnitrat	Kaliumhydroxyd	Olivenöl
Caesiumchlorid	Kaliumjodid	Orein
Caesiumsulfat	Kaliumkarbonat	Orceillino BB
Carbazol	Kaliummyronat	Orthionitrophenylpropion-
Coronitrat	Kaliumnitrit	säure
Corsulfat	Kaliumnitrat	Osmiumsäure (Über-
Chloralhydrat	Kaliumpermanganat	osmiumsäure)
Chlorkalk	Kaliumquecksilberjodid	Oxalsäure
Chlorcalcium	Kaliumwismutjodid	Palladiumoxydnitrat
Chloroform	Kobaltchlorid	Pankreatinglycerin
Chlorophyll		Paratoluidin
Chlorwasser		Patentblau
Chromsäure		Pepsin



Pepsinglycerin	Safranin	Tetramethylparaphenylen-
Petroläther	Salicylaldehyd	diamin (= Tetrpapier =
Phenol	Salicylsäure	Wurstes-Papier)
p-Phenylendiamin	Salpetersäure	Thallin
Phenylhydrazin	Salzsäure	Thallosulfat
Phloroglucin	Sturogrün I. E.E.E.	Thallacetat
Phosphormolybdänsäure	Scharlachrocin	Thymol
Piperonal	Schwefelammonium	Toluidindiamin
Pikrinsäure	Schwefelkohlenstoff	Uranylacetat
Pikrolonsäure	Schwefelsäure	Vanadinsaures Ammonium
Platinchlorid	Schwefelwasserstoffwasser	Vanillin
Pyrrogallol	Seide (gereinigtes Rohsais)	Wasser, dest.
Pyrrol	Selensäure	Wasserstoffsuperoxyd-
Quecksilberchlorid	Selensaures Natrium	lösung
Quecksilbernitrat	Silbernitrat	Weinsäure
Quecksilberoxydulnitrat	Skatol	Wismutsulfat
Resorcin	Stärke	Wolfram-Schwefelsäure
Rhodankalium	Stärkekleister	Xylidin
Rhodankobalt	Strontiumnitrat	Xylol
Rohrzucker	Sudan III	Zinnaldehyd
Rosanilin	Tannin	Zinkchlorid
Rutheniumrot		

### β) Bemerkungen zu einigen Reagentien.

Wasser. Ist immer im destillierten Zustande zu verwenden. Das Stöfffläschchen, welches das destillierte Wasser enthält, ist öfter zu reinigen und wieder mit destilliertem Wasser zu beschicken.

#### Jodlösungen.

Von diesen kommen in Betracht: Jodwasser, Jodalkohol, Jodglycerin, Jodjodkalium, Chlorzinkjod, Jodchlorcalcium und Jodchlorhydrat. Sie dienen vorzugsweise dem Stärke-, Zellulose- und Eiweißnachweis.

1. Jodwasser. Destilliertes Wasser wird mit einigen Sphttern metallischen Jod (100 cem Wasser und 0.2 g Jod) zusammengebracht und mehrere Tage stehen gelassen. Die Lösung hat eine hellbraune Farbe. Ein Überschuß von Jod ist empfehlenswert, weil die Lösung dann immer gesättigt bleibt.

2. Jodalkohol. In Alkohol löst sich Jod viel leichter als in Wasser. Man löst 1 g Jod in 10 cem Alkohol und erhält eine tiefbraune Lösung, die Jodtinktur. Bei zu starker Konzentration kann man mit Wasser oder Alkohol verdünnen, wobei aber Ausscheidung von Jod zu vermeiden ist.

3. Jodglycerin. 0.2 g Jod und 10 cem Glycerin. Die braune Lösung kann je nach Bedarf mit Wasser oder Glycerin verdünnt werden. Sie kann auch in der Weise bereitet werden, daß man Jodkalium in Glycerin löst und dann Jod zusetzt.

4. Jodjodkalium. 1 g Jod wird zu 100 cem einer wässerigen 5%igen Jodkaliumlösung zugesetzt. Die braune Lösung kann nach Bedarf auch verdünnt werden.

5. Chlorzinkjod. 30 g Chlorzink, 5 g Jodkalium, 1 g Jod und 14 cem Wasser (HÖHNEL I). Oder: Zink wird bis zur Sättigung in Salzsäure gelöst, die Lösung bei Gegenwart von überschüssigem Zink bis zur Dickflüssigkeit eingedampft, mit Jodjodkalium gesättigt und schließlich so viel metallisches Jod zugesetzt als sich löst. Oder: 20 g

Zinkchlorid werden in 8,5 ccm Wasser gelöst und zur abgekühlten Lösung tropfenweise Jodjodkaliumlösung (Jodkali 3 g, Jod 1,5 g und Wasser 60 ccm) hinzugefügt, bis sich ein beim Schütteln nicht mehr verschwindender Jodniederschlag bildet (NOWOPOKROWSKY I). 1,5 ccm dieser Jodkaliumlösung reicht gewöhnlich aus. Chlorzinkjod ist ein gutes Zellulosereagens. Hierfür hat MANGIN (I) noch andere Lösungen: Aluminiumchlorid, Chloralcalciumjod, Jodzinnchlorid und Jodphosphorsäure empfohlen.

6. Chloralcalciumjodlösung. Man setzt zu 10 ccm einer konzentrierten Chloralcalciumlösung ca. 0,5 g Jodkalium und 0,1 g Jod und filtriert nach schwachem Erwärmen von dem überschüssigen Jod mit Glaswolle (ZIMMERMANN I, 138).

7. Jodechloralhydrat. 5 g Chloralhydrat und 2 ccm Wasser und Jod zusetzen bis zur Sättigung (MEYER, A. I, 29). Ein ausgezeichnetes Mittel zum Stärkenachweis und zum Aufhellen. — Alle diese Lösungen werden zweckmäßig im Finstern aufbewahrt, weil sich im Lichte leicht Jodwasserstoffsäure bildet und durch sie manche Färbungen beeinträchtigt werden. SCHIMPER (I) empfiehlt eine Konzentration von 5 Teilen Chloral und 5 Teilen Wasser.

Salizylsaures Natrium-Kresol ist ähnlich wie Chloralhydrat ein geeignetes Mittel zur Aufhellung von Drogen und Drogenpulvern. Gute Dienste leistet eine Mischung von 10 g salizylsaurem Natrium, 15 g dest. Wasser und 5 g Kresolum hquifactum<sup>1)</sup>.

Kupferoxydammoniak, abgekürzt Cuoxam geschrieben, auch SCHWEIZERSCHES Reagens genannt, löst Zellulose. Darstellung: 1. Man fällt aus einer Kupfervitriollösung mit verdünnter Natronlauge Kupferoxydhydrat, wäscht durch Dekantieren gut mit Wasser, filtriert, preßt überschüssiges Wasser ab und löst in möglichst konzentrierter Ammoniakflüssigkeit. 2. Kupferblechspane werden mit 13–16% Ammoniakwasser übergossen und in einer offenen Flasche stehen gelassen (WIENER III). Das Reagens wirkt, frisch bereitet, am besten und ist im Finstern aufzubewahren.

NESSLERS Reagens. Es ist eine freie Kalilauge enthaltende wässrige Lösung von Kaliumquecksilberjodid, die nach FRESERIUS (I, 121) in folgender Weise hergestellt wird: 35 g Jodkalium und 13 g Quecksilberchlorid werden mit 800 ccm Wasser unter Umrühren zum Sieden erhitzt. Wenn eine klare Lösung entstanden ist, fügt man tropfenweise von einer kaltgesättigten Quecksilberchloridlösung zu, bis oben ein bleibender Niederschlag zu entstehen beginnt. Darauf fügt man noch 160 g Kalihydrat oder 120 g Natronhydrat zu, bringt durch Wasserzusatz auf 1 Liter, fügt noch ein wenig Quecksilberchloridlösung zu und läßt die Flüssigkeit sich absetzen. Die klare Flüssigkeit hat eine schwach gelbliche Färbung.

Molybdänsaures Ammon. Man stellt nach FRESERIUS (I, 85) dieses Reagens dar, indem man 150 g zerriebenes, reines molybdänsaures Ammon unter Erwärmung in 1 Liter Wasser löst und die Lösung in 1 Liter Salpetersäure von 1,2 spez. Gew. gießt. Um etwa vorhandene Phosphorsäure als phosphormolybdänsaures Ammon abzuschcheiden, läßt

1) KOPLER, L., Über Aufhellungsmittel von Drogen. Zeitschr. f. wiss. Mikroskopie, Bd. XXXVII, Jahrg. 1920, p. 213.

man die Lösung an einem mäßig warmen Orte stehen und gießt dann die farblose Lösung von dem Niederschlage ab. Das Reagens ist nun zum Gebrauche fertig. Die Flüssigkeit muß auf  $40^{\circ}\text{C}$  erwärmt, klar bleiben, und beim Kochen darf sie keinen gelben Niederschlag geben. Der sich dann ausscheidende weiße Niederschlag besteht aus Molybdänsäure oder saurem molybdänsauren Ammon. Nach längerem Aufbewahren der Lösung zeigt sich zuweilen eine gelbe Fällung, die eine Modifikation der Molybdänsäure darstellt. Oder man bereitet das Reagens, indem man 1 g Ammoniummolybdat in 12 cem Salpetersäure vom spez. Gew. 1,18 löst. Es dient zum Nachweis der Phosphorsäure.

Chromsäure,  $\text{CrO}_3$ , rote, nadelförmige, in Wasser leicht lösliche Kristalle. Wird in verschiedenen konzentrierten Lösungen verwendet.

Chromsäure — Schwefelsäure. Nach WIESNER (IV, 381) wird dieses Reagens in bequemer Weise erhalten, wenn man eine kalt-gesättigte Lösung von doppeltchromsaurem Kali mit überschüssiger Schwefelsäure behandelt und nun so viel Wasser zusetzt, als erforderlich ist, um die sich ausscheidende Chromsäure in Lösung überzuführen. Das Reagens besteht demnach im wesentlichen aus einem Gemenge von Chromsäure und Schwefelsäure. Es wird zum Nachweis von Kohle herangezogen.

Zur Darstellung von Kieselskeletten bediente sich CRÜGER (I, 284) der Chrom-Schwefelsäure schon im Jahre 1857. Er bereitete sie durch Vermischen von 1 Teil Kaliumbichromat, 1 Teil Schwefelsäure (spez. Gew. 1,82) und 6 Teilen Wasser.

Osmiumsäure (Osmiumtetroxyd),  $\text{OsO}_4$ . Riecht sehr unangenehm, die Dämpfe greifen die Schleimhäute der Nase und Augen an. Wird in Konzentrationen von 0,1—1% als Fett- und Gerbstoffreagens und zur Fixierung von Zellbestandteilen vielfach gebraucht.

Eau de Javelle oder Javellesche Lauge ist eine Lösung von Kaliumhypochlorit (CLOK) und in der Apotheke in gebrauchsfähigem Zustande zu erhalten. Nach STRASBURGER (I, 687) kann man dieses Reagens bereiten, indem man 20 Teile des officinellen (25%) Chlorkalkes mit 100 Teilen Wasser verrührt, einige Zeit stehen läßt, eine Auflösung von 15 Teilen reiner Pottasche in 100 Teilen Wasser hinzusetzt, nach einer oder mehreren Stunden die Mischung abfiltriert und das Filtrat verwendet. Die Lösung wirkt entfärbend, aufhellend und wird mit Vorteil beim Stärkenachweis benutzt.

SCHULZES Mischung ist ein Gemenge einer wässerigen, konzentrierten Lösung von chlórsaurem Kali und konzentrierter Salpetersäure (1:1). Dient in heißem Zustande zur Isolierung von Holz, Rinde und anderen Geweben und als Korkreagens usw. Man arbeitet zweckmäßig untorm Abzug wegen des sich entwickelnden Chlors und seiner Verbindungen.

Die FEHLINGSche Lösung wird nach CLASSEN (I) am besten in zwei getrennt aufzubewahrenden Lösungen bereitet: „a) Kupferlösung: 69,278 g reiner Kupfervitriol werden in Wasser gelöst und zu 1000 cem aufgefüllt. b) Tartratlösung: 173 g Seignettesalz werden in 400 cem Wasser gelöst und mit 100 cem einer Natronlauge versetzt, die 516 g NaOH im Liter enthält. Man mischt etwa 5 cem der Kupferlösung mit ebensoviel Tatratlösung und fügt zu der klaren blauen Lösung die Zuckerlösung“.

**MILLON'S Reagens.** Nach einer von HARTIG (1) angegebenen Modifikation des von MILLON 1849 angewandten Verfahrens erhält man das Reagens, wenn man reines Quecksilber in den gleichen Gewichtsteilen konzentrierter Salpetersäure löst und dann auf das Doppelte des Volumens mit Wasser verdünnt. NICKEL (1, 7) löst 1 cem Quecksilber in 9 cem der konzentrierten Salpetersäure vom spezifischen Gewicht 1,52 und versetzt die erhaltene Lösung mit dem gleichen Volumen Wasser. Schon MILLON hat erkannt, daß das Wirksame in seinem Reagens einerseits das Nitrat des Quecksilberoxyds und -oxyduls, andererseits die salpetrige Säure ist. Soll die Flüssigkeit gut wirken, so müssen die Nitrate beider Oxydationsstufen des Quecksilbers und überdies salpetrige Säure vorhanden sein. Wird das Reagens nach längerer Aufbewahrung weniger wirksam, so kann es durch Hinzufügung einiger Tropfen einer etwa 0,1 proz. Kaliumnitritlösung wieder restituiert werden (KRASSER I, 140).

**Hydroschwefligsaures Natrium-Indigweiß.** KNY (1) bereitet das zum Nachweis von Sauerstoff dienende Reagens wie folgt: „Etwa 30 g Natriumbisulfid ( $\text{NaHSO}_3$ ) wurden in etwa 100 cem Leitungswasser gelöst. Nach Zusatz von Zinkstaub wurde die Flüssigkeit ca. fünf Minuten geschüttelt und mit dem fünf- bis zehnfachen Volumen Leitungswasser verdünnt. Diese Lösung wurde, nachdem sie filtriert war, mit ziemlich dicker Kalkmilch so lange versetzt, bis eine geringe Bläunung des roten Lackmuspapieres eintrat. Die nach dem Absetzen überstehende Flüssigkeit war das gewünschte Reagens.“ Von dieser farblosen Flüssigkeit fügt man so viel zu einer wässrigen Lösung von Indigocarmin (indigoblau-disulfonsaures Natrium oder Indigotin), daß letztere eben noch entfärbt wird. Das Gemenge zeigt dann einen gelblichen Farbenton. Sollte das entfärbte Reagens sich im Sonnenlichte ein wenig blauen, so muß es nach KNY vor dem Versuch gekocht und die Flasche rasch verschlossen werden, um die Spuren von vorhandenem Sauerstoff zu entfernen. Auch wenn man der Flüssigkeit, die vorher nicht gekocht worden war und sich bei Besonnung blau gefärbt hatte, nachher einige Tropfen Natriumhydrosulfid hinzusetzt, bis sie wieder gelblich gefärbt erscheint, tritt bei Luftabschluß in der Sonne keine Bläunung mehr ein, und die Flüssigkeit ist jetzt tagelang für den Versuch geeignet. Sie wird durch Spuren von Sauerstoff rasch geblaut.

**Alkanninlösung.** Der aus der Wurzel von *Alkanna tinctoria* gewonnene rote Farbstoff dient zum Nachweis von Fetten, ätherischen Ölen und Harzen. Er färbt sie intensiv rot. Das käufliche Alkannin wird in absolutem Alkohol gelöst, mit dem gleichen Volumen Wasser versetzt und filtriert.

**Hämatoxylinlösung nach GULTAY (1)** zum Färben von Zellulosemembranen. 5 cem einer Lösung von 7 g Hämatoxylin in 50 cem absolutem Alkohol werden zu einer  $\frac{3}{1}$  proz. Alaunlösung hinzugefügt. Die alsbald entstehende Ausfällung wird vor dem Gebrauch abfiltriert. Die Lösung soll eine Woche vor dem Gebrauch hergestellt werden. Man läßt die Präparate 5—15 Minuten in der Lösung.

**Hämatoxylinlösung nach BÖRMER.** Von einer konzentrierten alkoholischen Hämatoxylinlösung, die 0,35 g Hämatoxylin auf 10 g Alkohol enthält und haltbar ist, werden einige Tropfen zu einer 0,3 proz.

Alaunlösung gesetzt. Das Gemisch muß einige Tage stehen und vor dem Gebrauch filtriert werden.

Hämatoxylinlösung nach DELAFIELD. (Siehe W. BEIKENS II, 112.)

1. Hämatoxylin, kristallisiert . . . . .	4 g
2. Alkohol, absoluter . . . . .	25 ccm
3. Ammoniakalaun, kristallisiert . . . . .	52 g
4. Wasser . . . . .	400 ccm
5. Glyzerin . . . . .	100 "
6. Methylalkohol . . . . .	100 "

Man löst 1 in 2 und 3 in 4 und vermengt beides. Kann nach Belieben verdünnt werden. Vor dem Gebrauch filtrieren.

Hämalaun nach P. MAYER. 1 g reines Hämatein oder Hämatein-Ammoniak wird in 50 ccm 90proz. Alkohol gelöst und dann eine Lösung von 50 g Alaun in 1 Liter Wasser zugesetzt.

Das SCHIFF'sche Reagens zum Nachweis von Aldehyden wird gewonnen durch Einleiten von Schwefligsäureanhydrid in eine 0,025proz. Lösung eines Rosanilinsalzes, bis die Flüssigkeit schwach gelb gefärbt ist. Eine solche Lösung wird durch Aldehyde rot bis rotviolett gefärbt (SCHIFF I).

### 3. Die Herstellung eines mikroskopischen Präparates.

Die Art und Weise, wie mikrochemische Präparate hergestellt werden, kann verschieden sein. In der Regel handelt es sich aber doch zumeist um Schnitte, die in einen Tropfen einer bestimmten Flüssigkeit eingelegt und dann unter dem Mikroskop beobachtet werden. Man geht dabei in folgender Weise vor: Es wird zunächst ein wohl gereinigter Objektträger und ein reines Deckglas zurecht gelegt. Sodann fertigt man mit dem Rasirmesser aus freier Hand einen oder mehrere dünne Schnitte an, die rasch auf die Mitte des Objektträgers gebracht, mit einem Tropfen des Reagens aus dem Stiffläschchen versetzt und dann mit dem Deckgläschen bedeckt werden, wobei darauf zu achten ist, daß keine Luftblasen entstehen, die Flüssigkeit den Raum zwischen Objektträger und Deckglas gerade ausfüllt und über seinen Rand nicht hinausreicht. Sind zur Ausführung der Reaktion zwei Reagentien notwendig, so tupft man sie auf den Objektträger knapp nebeneinander auf, gibt in einen den Schnitt und bringt dann mit einer Glasnadel die Tropfen zur Vereinigung. Oft ist es zweckmäßig, die Tropfen nicht erst zu vermischen, sondern man läßt das Deckglas auf die beiden nebeneinander befindlichen Tropfen möglichst langsam und vorsichtig auffallen, weil dann unterhalb des Deckgläschens ein Konzentrationsgefälle entsteht, was für das Zustandekommen und den Verlauf der Reaktion von Vorteil sein kann. Dann können, wenn es sich z. B. um Fällungsreaktionen handelt, Kristalle von verschiedener Form und Größe entstehen. Es gibt Fälle, wo die Reaktion augenblicklich oder erst nach einigen Minuten oder erst nach Stunden oder gar Tagen eintritt. In letzterem Falle muß man dafür sorgen, daß die Reagenzflüssigkeit nicht verdunstet. Dies kann häufig leicht verhindert werden, indem man das Präparat in einen dunstgesättigten Raum bringt. Ein solcher kann hergestellt werden, indem man auf eine Kristallisierschale ein mit nassem Filtrierpapier

ausgekleidetes Becherglas umgekehrt aufstellt und mit destilliertem Wasser absperrt. Unter das Becherglas wird ein etagenartig gebautes Gestell aus Zinkblech oder Glas gebracht, das die Präparate aufzunehmen bestimmt ist.

Jeder Mikrochemiker tut gut daran, sich eine Sammlung von mikroskopischen Präparaten anzulegen, um sie zum Vergleich immer zur Hand zu haben. Bei Anfertigung eines solchen Präparates muß man immer überlegen: Welche Einbettungsflüssigkeit ist zu wählen, damit der nachzuweisende Körper oder sein Reaktionsprodukt und auch der Verschlußrahmen des Deckglases nicht gelöst oder sonstwie verändert wird? Demgemäß wird man Wasser, Glyzerin, Kaliumacetatlösung, Kanadabalsam, die Reaktionsflüssigkeit selbst usw. verwenden. Manche Präparate können auch in Luft liegend unter dem Deckglas aufbewahrt werden, wie z. B. viele durch Mikrosbhlumation gewonnene Kristalle.

Als Verschlußmittel dienen Wachs, Asphaltlack, Maskenlack und andere, über die in Büchern über mikroskopische Technik das Nähere zu finden ist. Hier möchte ich nur auf ein Verschlußmittel eingehen, das ich bereits seit 38 Jahren praktisch mit ausgezeichnetem Erfolg verwende und das außerhalb Österreichs noch zu wenig bekannt ist. Dickflüssiger, kauflicher venetianischer Terpentin wird in einer Porzellanschale auf einem Sandbad etwa 2 bis 3 Tage eingedickt, bis das

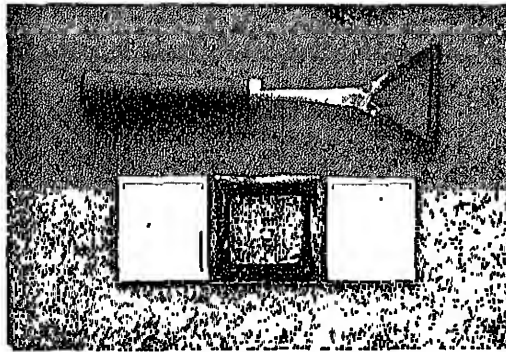


Fig. 5

- Oben Dreieckig geformter Draht mit Griff. Dient zum Auftragen des Verschlußharzes.  
 Unten Ein fertiges Dauerpräparat. Etwa  $\frac{1}{4}$  der natürl. Größe

kalt gewordene Harz bei gewöhnlicher Temperatur dem Finger keinen Eindruck mehr gestattet. Mit einem heißen Draht, der zu einem Dreieck geformt (Fig. 5) in einem Holzgriff steckt, wird das Harz in noch flüssigem Zustande sukzessiv um die vier Kanten des Deckglases aufgetragen, wonach es sofort erstarrt und einen ausgezeichneten luftdichten Verschluß bildet. Ich verschließe die meisten meiner mikroskopischen Präparate mit diesem Harz, und ich kann diese ausgezeichnete und nützlich vorteilhafte Verschlußmethode, die ich im Wiener pflanzenphysiologischen Institute als Assistent eingeführt habe und die jetzt von seiten der Botaniker in ganz Österreich seit den achtziger Jahren praktiziert wird, auf das Wärmste empfehlen.

Ist das Präparat verschlossen, so soll es, wenn möglich, sofort etikettiert werden. Die Etiketten sollen eine rechteckige Gestalt haben, können zum leichteren Auffinden in der Sammlung von verschiedener Farbe sein und werden am besten mit Synthetikon oder einer Lösung von braunem Schellack in Alkohol angeklebt. Ein so hergestelltes Präparat bietet dann dieses Aussehen dar (Fig. 5).

**Aufbewahrung.** Nach Fertigstellung müssen die Präparate sorgfältig aufbewahrt werden, um sie vor Licht und Staub zu schützen. Hierzu dienen die Präparatenkästen und Präparatenkartons, die in verschiedener Form und Größe leicht käuflich zu haben sind.

#### 4. Beachtenswerte Winke.

Die Reinheit der Reagentien spielt bei mikrochemischen Arbeiten eine ganz besondere Rolle. Es handelt sich ja stets um den Nachweis sehr geringer Mengen eines Stoffes, und wenn dieser schon im Reagens als Verunreinigung vorhanden wäre, so beweist ein positiver Ausfall der Reaktion zunächst nichts. Man beziehe daher die käuflichen Reagentien in möglichst reiner Form, schütze sie vor Staub, Licht und den Verunreinigungen der Laboratoriumsluft. Auch bei den mit der Herstellung eines mikroskopischen Präparates verbundenen Manipulationen wird man jede Verunreinigung zu vermeiden und ganz besonders darauf zu achten haben, daß beim Auftropfen der Reagenzflüssigkeit nicht mit dem Stiftende fremde Substanzen in das Tropffläschchen eingeschmuggelt werden.

**Einführung der Reaktion.** Soll in einem Gewebe eine Reaktion mit einem bestimmten Stoff erzielt werden, so ist es zweckmäßig, die Reaktion, wenn möglich, zunächst mit reiner Substanz einzüben, um sie in allen Details kennen zu lernen. Fällungen geben für ein und dieselbe Substanz oft sehr verschiedene Formen und Größen von Kristallen, und Farbenreaktionen geben verschiedene Farbtöne, die man kennen lernen soll, bevor man die Reaktionen mit dem Schnitte ausführt.

**Langsame Diffusion.** Liegt das Präparat unter dem Deckglas in einer Flüssigkeit und läßt man einen Reagenztropfen vom Rande des Deckglases zufließen, so dauert es oft außerordentlich lange Zeit, bis das Reagens in das Innere des Schnittes eindringt. Das wird sehr häufig übersehen und kann zu falschen Schlüssen führen. Man kann, um den Eintritt der Reaktion zu beschleunigen, das Deckglas emporheben und wieder auflegen. Die langsame Diffusion ist auch bei der Prüfung der Löslichkeit eines Körpers unter Deckglas sehr zu berücksichtigen. Löst sich eine Substanz unter Deckglas nicht, so prüfe man die Schnitte noch in einer Dose oder Epronvette, wo sie in einer größeren Menge des zu untersuchenden Lösungsmittels längere Zeit verweilen sollen.

**Rückstand des Reagenztropfens.** Resultiert bei Ausführung einer Reaktion oder beim Verdampfen ein kristallinischer Rückstand, so ist es empfehlenswert, sich durch einen Kontrollversuch zu überzeugen, welche Kristalle das Reagenztröpfchen bei der Verdunstung für sich allein hinterläßt, damit diese nicht mit dem Reaktionsprodukt verwechselt werden.

#### 5. Borodins Methode.

Ein Verfahren, das bei mikrochemischen Untersuchungen dann, wenn es sich um die Diagnose von kristallisierten Verbindungen handelt, gute Dienste leisten kann, verdanken wir BORODIN (I, 805). Kristalle einer bestimmten Substanz lösen sich in einer vollkommen gesättigten Lösung derselben Substanz nicht. Auf dieser Tatsache beruht BORODINS

Methode. Hat man z. B. in einem Gewebeschnitte Kristalle von Asparagin und Salpeter, die in der Form sich ähneln, und will man wissen, welche Asparagin und welche Salpeter sind, so legt man den Schnitt in eine gesättigte Asparaginlösung. Man wird dann beobachten, daß sich die Salpeterkristalle lösen, die des Asparagins aber nicht. Dieses Prinzip kann natürlich für die verschiedensten Substanzen verwertet werden, stets muß aber dafür gesorgt werden, daß die in Frage kommende Lösung wirklich gesättigt und nicht kälter als der zu prüfende Körper ist. Das Verfahren gewinnt an Sicherheit, wenn die Kristalle in der gesättigten Lösung sich nicht nur nicht lösen, sondern sogar weiterwachsen. Man darf aber nicht vergessen, daß auch isomorphe Substanzen das Wachstum veranlassen könnten.

## 6. Über den Nachweis der alkalischen und sauren Reaktion des Zellinhaltes und seiner Teile.

Für das Verständnis gewisser Erscheinungen in der lebenden Zelle erscheint es wichtig, zu wissen, wie das Plasma, der Zellkern, der Zellsaft und andere Bestandteile der Zelle oder gewisse Sekrete reagieren. Um die Reaktion festzustellen, gibt es verschiedene Wege:

a) Anthocyan Bekanntlich hat das in so vielen Zellen im Zellsaft befindliche Anthocyan die Eigentümlichkeit, in saurerer Lösung rot, in neutraler violett und in schwach alkalischer blau bzw. grün zu erscheinen. Aus diesem Grunde wird dieser Farbstoff ebenso wie Lackmus als feiner Indikator für Alkaleszenz und Azidität verwendet. Das Anthocyan findet sich stets im Zellsaft, zumeist gelöst in roter Farbe, vor. Daraus kann man mit Sicherheit schließen, daß der Zellsaft, wenn er rot gefärbt ist, sauer reagiert. Erscheint der Zellsaft violett, so deutet dies auf eine neutrale, und erscheint er blau — ein im Pflanzenreich seltener Fall —, so zeigt dies eine schwach alkalische Reaktion an.

Das Plasma nimmt, solange die Zelle lebt, niemals Anthocyan auf, sobald sie aber getötet wird, sei es durch höhere Temperatur ( $60^{\circ}\text{C}$ ), durch ein Narkotikum (Chloroform) oder durch Druck, wird das Plasma für den Farbstoff permeabel, ja er wird darin sogar gespeichert und färbt sich dabei gewöhnlich blau. Dasselbe zeigt auch der Zellkern. Daraus folgt, daß in diesen Fällen das Plasma und der Zellkern alkalisch reagieren. -- Will man den Nachweis dafür auch bei Zellen oder Geweben erbringen, die des Anthocyans entbehren, so kann man dies durch eine Anthocyanlösung bewerkstelligen. Eine solche bereitet man sich zweckmäßig aus Rotkraut, das vom Herbst bis zum Frühjahr auf dem Markte zu haben ist, oder nach SCHWARZ (I, 18) aus dem Braunkohl (*Brassica oleracea* var. *crispa* GARTNER) durch Behandlung mit wenig heißem ( $60^{\circ}\text{C}$ ) Wasser. Da das Anthocyan in die lebende Zelle nicht einzudringen vermag, so muß man das Gewebe z. B. durch Alkohol zuerst töten und dann in die Farbstofflösung einlegen. Plasma und Kern speichern das Anthocyan sehr häufig in blauer Farbe. Auf diese Weise konnte SCHWARZ (I, 20) bei einer großen Anzahl von Gewächsen zeigen, daß Plasma und Kern alkalisch reagieren und daß im Zellkern nicht bloß das Chromatin und die Nukleolen, sondern auch die Gerüstsubstanz alkalische Reaktion aufweisen.

b) Anilinfarbstoffe. Auf Grund der Untersuchungen von PFEFFER (I, II) wissen wir, daß sich auch verschiedene Anilinfarbstoffe,



die die Zelle in verdünnter Form nicht schädigen und ihre Farbe je nach der alkalischen oder saueren Reaktion ändern, in die Vakuolenflüssigkeit einführen und dann durch ihre Farbe die Reaktion erkennen lassen. Solche Indikatoren sind Cyanin, Methylorange, Kongorot, Tropaeolin 000, Tropaeolin 00 und Rosolsäure, doch geben nur die drei zuerst genannten brauchbare Resultate.

Cyanin (Chinolinblau, Chinolinjodcyanin) erscheint in alkalischer Lösung blau, in saurer farblos. Der Farbstoff ist in Wasser nur in geringem Maße löslich. Durch eine Cyaninlösung wird das normal fortströmende Plasma der Wurzelhaare von *Trianen bogotensis* rasch gebläut, weil es alkalisch reagiert (PFEFFER I, 259).

Methylorange wird beim Titrieren als Indikator verwendet. Seine Lösung ist in genügender Verdünnung gelborange. Alkalien ändern den Farbenton nicht, Säuren verwandeln ihn in Rot. In einer 0,01 proz. wässrigen Lösung färbt sich das strömende Plasma von *Trianen* nicht stark, aber doch deutlich gelborange. Fügt man dann zu dem Präparate eine 0,2 proz. Lösung von Zitronensäure, so nimmt das strömende Plasma einen rötlichen Ton an, der bei Zufuhr von verdünnter Ammonkarbonatlösung wieder nach Gelborange umschlägt. Der Zellsaft von *Azolla* färbt sich mit Methylorange rötlich; der von *Spirogyra* weist darin rötliche Körnchen auf, woraus auf eine saure Reaktion des Zellsaftes zu schließen ist.

Kongorot, in neutraler und alkalischer Lösung rot, in saurer blau, läßt sich leicht in die Vakuolen von *Myxomyceten* plasmodien einführen, färbt sie rot, höchstens mit einem Stich ins Bläuliche, und zeigt auf diese Weise die neutrale oder schwach saure Reaktion der Vakuolenflüssigkeit an (PFEFFER II, 210).

c) Lackmusseide. Um Wasserstoff- und Hydroxylionen in außerordentlich kleinen Mengen nachzuweisen, bediente sich EMICH (I—IV) der Lackmusseide. Sein Verfahren besteht darin, eine Fällung oder Färbung nicht unmittelbar unter dem Mikroskop zu betrachten, sondern erst nach vorhergehender Fixierung auf einer Faser. Er färbt Seidenfäden mit Lackmus und benutzt sie als Reagens. Zur Herstellung der Lackmusseide „kocht man käuflichen Lackmus mit etwas weniger als dem gleichen Gewichte Wasser und entfernt den bekanntlich sehr unreinen ersten Auszug. Der Rückstand wird nochmals mit wenig heißem Wasser behandelt, die Lösung filtriert, siedend mit Schwefelsäure übersättigt und zum Färben von Seide verwendet, welche man etwa eine halbe Stunde lang im heißen Bade verweilen läßt, um sie schließlich in fließendes Wasser zu bringen, wo die rein rote Farbe bald einen Stich ins Violette erhält. Nach dem Trocknen wird das Präparat, 'die rote Lackmusseide', im Dunkeln aufbewahrt. Behufs Herstellung der 'blauen Lackmusseide' übergießt man die rote mit wenig Wasser, setzt, vorsichtig stark verdünnte Lauge zu, spült rasch einmal mit destilliertem Wasser ab, preßt zwischen Papier und trocknet. (In einem speziellen Falle wurden für 0,15 g rote Seide 0,6 cem Lauge, 1 cem = 2,6 mg NaOH, gebraucht.)“ Später empfahl EMICH (II), die rote Lackmusseide nicht mit Lauge, sondern mit Bleiessig zu neutralisieren, da die blaue Seide, wenn sie mit größeren Tröpfchen zusammengebracht wird, Alkali verliert und rot wird, was zu Täuschungen Veranlassung geben kann. EMICH verfährt bei der Prüfung auf eine

Reaktion in der Weise, daß er den Seidenfaden auf einem kleinen Wachs-klötzchen befestigt und mit einer scharfen Schere beschneidet, so daß etwa ein 1 cm langer Teil frei bleibt. Ein Tropfen der zu prüfenden Flüssigkeit, etwa 0,05 mg, wird auf eine Glasplatte gebracht und das freie Ende des Seidenfadens lotrecht eingetaucht, wobei er während der Verdampfung der sich immer mehr und mehr konzentrierenden Lösung ausgesetzt bleibt. Nach dem Verdunsten der Flüssigkeit wird der Faden mikroskopisch (Vergr. 150) auf seine Farbe geprüft und aus der Farbe die Alkaloeszenz oder Azidität des Tröpfchens festgestellt.

Die Empfindlichkeit dieser Methode ist eine erstaunliche. Ihre Grenze liegt nach EMERIN (IV, 48) für rote Lackmusseide bei 0,0003  $\mu\text{g}$  Natriumhydroxyd, für blaue Lackmusseide bei 0,0005  $\mu\text{g}$  Salzsäure und für Bleioxydlackmusseide bei 0,001  $\mu\text{g}$  Salzsäure. Um sich von dem Alkaligehalt des Glases unabhängig zu machen, empfiehlt es sich, den Objektträger mit neutralem Paraffin zu überziehen oder Quarzobjektträger zu benutzen.

Die Lackmusseide wird auch dem Botaniker Dienste leisten, wenn es sich darum handelt, Spuren von Alkalien oder Säuren festzustellen, z. B. bei Prüfung von Plasmodien, Guttations-, Nektar-, Safttropfen usw. Im allgemeinen wird man für botanische Zwecke, da es sich ja stets um relativ große Tröpfchen handelt, mit schmalen, keilförmig zugeschnittenen Lackmuspapierstreifen das Anslangen finden. Es ist bekannt, daß manche Blüten, so die des Birnbaums (*Pirus domestica*) und des Weißdorns (*Crataegus oxyacantha*) stark nach Trimethylamin riechen. Bringt man solche in Wasser stehende Blütenzweige unter eine Glasglocke, so treten aus dem Blütenboden Safttropfen hervor, die wahrscheinlich Trimethylamin enthalten und mit Lackmusseide oder Lackmuspapier eine sehr deutliche alkalische Reaktion geben.

Alkalisches reagieren auch die Siebröhrensaft der Cucurbitaceen (KRAUS I), vielleicht auch anderer Pflanzen. Bei Cucurbita wird die Reaktion wahrscheinlich durch Kaliumphosphat bedingt.

Anschließend daran sei noch eine Methode besprochen, die zwar nicht der Feststellung der Reaktion dient, wohl aber zum Nachweis von Alkali geeignet erscheint.

d) Das Jodeosin als Salz — die Kaliumverbindung des Tetraiodfluoresceins — löst sich in Wasser leicht zu einer intensiv roten Flüssigkeit, in Äther, Chloroform, Toluol nicht. Die freie Farbsäure des Jodeosins, gewonnen aus dem Salz durch Ansäuern der Lösung, löst sich hingegen in organischen Lösungsmitteln. Schüttelt man die freigewordene Farbsäure mit Äther, so löst sie sich darin mit gelber Farbe: „Nimmt man nun ein trockenes Gewebe und behandelt es mit der ätherischen Lösung der freien Farbsäure, so färben sich diejenigen Stellen des Gewebes, an welchen Alkali vorhanden ist, sofort intensiv rot — es entsteht eben hier durch chemische Verbindung von freier Farbsäure und Alkali des Gewebes das charakteristische intensiv rot gefärbte Alkalisalz, welches, da kein Wasser zugegen, an Ort und Stelle verbleibt und uns, worin der wissenschaftliche Wert der Methode besteht, ein exaktes Bild der topischen Verteilung von Alkali innerhalb des Gewebes liefert.“ Die Methode, welche HOR (I) im Anschluß an Erfahrungen von MYLIUS und ENRLICH zum Studium der Alkaliverteilung in pflanzlichen Geweben empfohlen hat, eignet sich nur für trockene

Gewebe (Drogen, Hölzer, Samen usw.), da in saftigen das Alkali leicht ausgewaschen wird und auch andere, chemisch nicht genügend bekannte Färbungen auftreten können.

Nach der Jodeosinmethode erwiesen sich bei Versuchen von HOR alkalifrei: Holundermark, Schnitte durch die Rinde von *Quercus*, *Betula*, Zimt usw., geringer Alkaligehalt fand sich bei Querschnitten durch die Muskatnuß, Pfeffer und ein sehr deutlicher bei der Mehrzahl der untersuchten Objekte: Schnitte durch *Folia Lauri*, *Radix Althaeae*, *Rhizoma Calami*, Zweige von *Alnus glutinosa* usw. In diesen Zweigen war das Cambium, die sekundäre Rinde, die Markkrone und das Holzparenchym tingiert, alle anderen Elemente reagierten negativ. Das Cambium zeigt überhaupt großen Alkaligehalt an. Auch Tropfen von verschiedenen Milchsaften (*Taraxacum offic.*, *Chelidonium majus* und *Euphorbia Cyparissias*) verraten, völlig eingetrocknet und mit dem Reagens behandelt, starken Alkaligehalt.

## 7. Die Mikrosublimation.

Der botanischen Mikrochemie erwuchs durch die Anwendung der Mikrosublimation ein wichtiges Hilfsmittel. Bereits vor nahezu 50 Jahren hat HELWIG (I, II) die Mikrosublimation in die chemische Analyse eingeführt, indem er namentlich Giftstoffe (arsenige Säure, Alkaloide) durch Sublimation nachzuweisen suchte. Er ging dabei so vor, daß er eine sehr kleine Menge des zu untersuchenden Alkaloids in die hohlkugelige Vertiefung eines Platinblechs brachte, mit einem Objektträger bedeckte und dann das Blech mit einer kleinen Flamme bis zum Schmelzen des Alkaloids erwärmte. Das Sublimat schlug sich dann auf dem Objektträger nieder und konnte dann weiter geprüft werden. Seine Versuche bezogen sich unter anderen auf Morphin, Strychnin, Brucin, Veratrin, Aconitin, Atropin, Solanin und Digitalin und ergaben in allen acht Fällen Sublimat. GUY (I) folgte HELWIGS Beispiel, sublimierte aber nicht wie dieser auf einer Glasplatte und dem Platinblech, sondern auf einer Porzellanplatte und zur Vermeidung höherer Temperatur auf dem Wasserbad. — WIESNER (V, 175) bemerkte, als er Tolubalsam auf dem Objektträger, bedeckt mit einem Deckglas, schmolz, daß am Rande der Schmelze sich ein aus feinen Nadeln bestehendes Sublimat bildete. Und aus dem Storax konnte er unterm Deckglas Zimtsäure sublimieren (V, 178).

Obwohl auch BEHRENS (II) die Mikrosublimation benutzte, schenkten die Botaniker diesem Verfahren keine Beachtung, und erst NESTLER (I—IV) blieb es vorbehalten, auf die Wichtigkeit und Brauchbarkeit dieser so einfachen Methode hinzuweisen und sie für Kaffee, Vanillin, Cumarin und Benzoesäure erfolgreich anzuwenden. Auf diesem Wege folgte ihm in mehreren Untersuchungen TUNMANN (I—IV), dem es hauptsächlich darum zu tun war, die Mikrosublimationsmethode in den Dienst der Pharmakognosie zu stellen und zu zeigen, daß diese Methode zur Erkennung gewisser Drogen ganz ausgezeichnete Dienste zu leisten vermag. Er konnte aus *Gentiana* das Gentisin, aus *Asa Foetida* die Ferulasäure, aus Birkenrinde das Betulin, aus der Colombo- wurzel die Colomboalkaloide, aus der Manna den Mannit, aus Früchten von *Sorbus aucuparia* die Maleinsäure und Sorbinsäure, aus Citrusfrüchten die Citraconsäure und aus verschiedenen Samen Fettsäuren

sublimieren und so die genannten Pflanzenobjekte viel besser diagnostizieren, als dies auf Grund einer anatomischen Untersuchung allein möglich ist. Analoges zeigte MITHACIER (I) für die Sublimation der Antrachinonderivate bei Rheum, Senna, Rhamnus Frangula und R. PURSHIANA und SENFT (I) für den Nachweis des Physcions einiger Flechten.

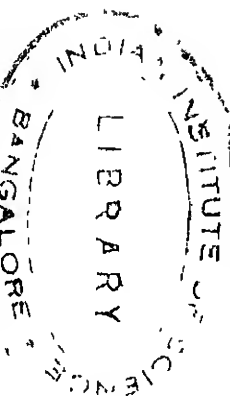
Die Durchführung der Mikrosublimation kann in verschiedener Weise bewerkstelligt werden.

a) Mit Uhrglas. NESTLER benutzt Uhrgläser von 8 bis 9 cm Durchmesser und ungefähr 1,5 mm Dicke. „In einem solchen Uhrglas wird die zerkleinerte Probe des zu untersuchenden Objektes in Form eines kleinen Häufchens angeordnet und mit einer runden Glasplatte bedeckt. . . . Um das Sublimieren zu befördern, kann man auf der Außenseite der Glasplatte über dem zu prüfenden Objekte einen Wassertropfen anbringen. Das Ganze kommt auf ein von einem Dreifuß getragenes Drahtnetz über die kleine Flamme eines Bunsenbrenners (Mikrobrenners). Die Spitze dieser kleinen Flamme war bei allen diesen Versuchen durchschnittlich 7 cm von dem Uhrglas entfernt.“ Nach einiger Zeit erscheint das Sublimat, welches nun in seiner ganzen Ausdehnung mikroskopisch untersucht werden soll. Anstatt des Uhrglases läßt sich auch eine Petrischale verwenden.

b) Asbestplatte und Objektträger. TUXMANN (I) bringt die zu prüfende Substanz (Pulver, Schnitte oder Flüssigkeit) auf das eine Ende eines Objektträgers und diesen auf eine Asbestplatte. Darüber legt man zur Aufnahme des Sublimats einen zweiten Objektträger, der an einem Ende durch ein 3 bis 5 mm hohes, auf der Asbestplatte liegendes Korkstückchen gestützt wird. An Stelle des oberen Objektträgers kann man auch eine breitere Glasplatte verwenden, um ein seitliches Abstreichen des flüchtigen sublimierenden Körpers zu verhindern.

c) Glasring. Ich erhielt bei vielen Substanzen sehr schöne Sublimats, indem ich auf die Asbestplatte einen Objektträger brachte, auf diesen einen kleinen Glasring (1,5 cm breit, 0,7 cm hoch) legte, die zu prüfende Substanz hineingab und dann den Ring zur Aufnahme des Sublimats mit einem Objektträger bedeckte.

Zur Erhitzung bediene man sich eines Mikrobrenners mit kleiner 1 bis 1,5 cm langer Flamme, die zur Regulierung der Temperatur der Asbestplatte oder dem Drahtnetz mehr oder minder naher gerückt werden kann. Die anzuwendende Temperatur erscheint von wesentlicher Bedeutung, deshalb lasse man sich durch ein negatives Resultat nicht gleich abschrecken, sondern sublimiere bei verschiedenen Temperaturen, zuerst bei mäßiger, dann bei stürkerer, auch deshalb, weil das Aussehen der Sublimats je nach der Temperatur wechseln kann. Auch ist es nach meinen Erfahrungen zweckmäßig, sich nicht auf eine Methode zu verlassen, sondern alle drei eben erwähnten (a, b, c) zu versuchen. Man trachte von einer Substanz stets mehrere Sublimats zu erhalten, um über die oft recht verschieden ausfallenden Gestalten und Größen der Kristalle einen Überblick zu gewinnen. Das Sublimat wird oft instruktiver und reiner, wenn es ein zweites oder drittes Mal sublimiert wird, oder wenn man die Anflüge anhaucht oder mit Lösungsmitteln



behandelt und diese verdampfen läßt. Das erhaltene Sublimat wird dann weiter geprüft. Mit ein und demselben Anflug lassen sich zahlreiche Prüfungen vornehmen, wenn man mit Glaskapillaren die Reagenztröpfchen aufträgt. Man kann dann mit fabelhaft kleinen Mengen Substanz zu einer sicheren Diagnose gelangen.

o) Sublimation in luftverdünntem Raume. Da die Sublimation eines Körpers durch die Verminderung des Luftdrucks gefördert wird, so ist es von vornherein zu erwarten, daß man bei der Sublimation im Vakuum besonders gute Resultate erzielen dürfte. ROSENTHALER (I) hat dies mit feinen Drogenpulvern zuerst versucht; die von ihm benutzte Apparatur ließ aber eine bequeme Beobachtung und Prüfung des auf der Wand des Reagenzglases erscheinenden Sublimates nicht zu. Eine gründliche Abhandlung über die Mikrosublimation von Alkaloiden in luftverdünntem Raume verdanken wir EDER (I). Er bediente sich zur Mikrosublimation eines einfachen Apparates aus Jenaer Glas, der in Fig. 6 abgebildet erscheint.

„Der Apparat besteht aus zwei Teilen, die beide aus Rohrstücken von 2,5 cm Weite hergestellt sind. Der kürzere, untere Teil von 4,5 cm Länge verengt sich unten und wird durch ein Näpfchen von 1 cm Tiefe und 0,5 cm Weite abgeschlossen. In dieses kommt die zu sublimierende Substanz. Über das Näpfchen wird ein rundes Deckgläschen von 18 mm Durchmesser gelegt, welches zum Auffangen des Sublimates dient. Das wagerechtliegende Plättchen hat vom Grunde des Näpfchens einen Abstand von 13 mm. Es werden also an die Steighöhe der Dämpfe keine hohen Anforderungen gestellt. Am offenen Ende ist das untere Apparatstück mit einem verdickten, flachen Rand versehen. Derselbe ist sehr fein geschliffen und paßt dicht auf die Endigung des oberen Apparatstückes, welche ganz gleich gebaut ist. Das obere Apparatstück hat eine Länge von 12 cm und ist am oberen Ende mit einem engeren Tubus versehen. Dieser wird durch einen kurzen Kantschukstopfen verschlossen. Der Stopfen trägt ein Thermometer, das bis etwa zum Skalenteil  $150^{\circ}$  in den Apparat hineinragt, und dessen Quecksilberbehälter möglichst nahe dem runden Deckgläschen im unteren Teil des Apparates endet. Das obere Apparatstück, welches in senkrechter Lage in einem Stativ befestigt wird, besitzt noch ein seitliches Ansatzrohr, welches durch einen Vakuumschlauch mit einem Manometer verbunden ist; von diesem geht die Schlauchverbindung weiter zur Wasserstrahlpumpe. Um zu vermeiden, daß infolge wechselnden Wasserdruckes Wasser aus der Saugpumpe in das Manometer oder in den Apparat eindringt, schaltet man zweckmäßig zwischen Pumpe und Manometer einen Glashahn und eine dickwandige Saugflasche ein. Der Hahn wird vor dem Abstellen der Pumpe geschlossen. Wenn der Schliff des Apparates, der sehr sorgfältig ausgeführt sein muß, mit einer Spur Vaseline eingefettet wird, so erreicht man mittels einer gut ziehenden Wasserstrahlpumpe leicht eine Luftverdünnung von 9 bis 12 mm Druck. Der Schliff kann eventuell auch vermieden werden, so daß der Apparat dann die einfache, in Fig. 6 rechts abgebildete Form erhält. Auch das innere Thermometer ist entbehrlich, sofern man auf die Bestimmung der Plättchentemperatur verzichten will. Trägt man dafür Sorge, daß die Substanz im Näpfchen nicht über den Schmelzpunkt erhitzt wird, so braucht man nicht zu befürchten, daß die Kristalle

des Sublimates schmelzen, denn die Temperatur des Plättchens bleibt immer unter derjenigen des im Nöpfchen zur Verdampfung gebrachten Körpers.

Das Erhitzen des zu sublimierenden Körpers geschieht auf die Weise, daß der unterste Teil des Apparates, das Nöpfchen, welches die Substanz enthält, in konzentrierte Schwefelsäure eingesenkt wird, die sich in einem Becher befindet und mittels einer kleinen Bunsenflamme langsam erwärmt wird. Unmittelbar neben dem Nöpfchen taucht ein Thermometer in das Schwefelsäurebad, derart, daß sich der Quecksilberbehälter gerade unter dem Niveau der Säure neben dem Nöpfchen befindet.“

EDER hat ausschließlich mit reinen Alkaloiden gearbeitet und damit bei vielen vorzügliche Resultate erhalten; es wird aber weiterer Versuche bedürfen, um festzustellen, ob sich die Mikrosublimation im luftverdünnten Raume auch für Gewebe eignen wird. Nach meinen Erfahrungen wird man mit der Sublimation unter gewöhnlichem Luftdruck in den meisten Fällen das Auslangen finden, womit aber nicht gesagt sein soll, daß man im luftverdünnten Raume in einzelnen Fällen nicht bessere Resultate erzielen dürfte.

Jedenfalls ist die Mikrosublimation berufen, in der Mikrochemie

eine bedeutende Rolle zu spielen und den Nachweis von bestimmten Stoffen in kleinen Fragmenten der Pflanze zu ermöglichen oder zu erleichtern. Der Nutzen der Mikrosublimation wird noch gesteigert werden, wenn sie mit der von PREGL (1) ausgearbeiteten quantitativen Mikroelementaranalyse kombiniert werden wird. PREGL benötigt 8—12 mg einer organischen Substanz, um darin Kohlenstoff, Wasserstoff, Stickstoff, Schwefel oder Halogene genau zu bestimmen, und solche Mengen können durch die Mikrosublimation leicht beschafft werden.

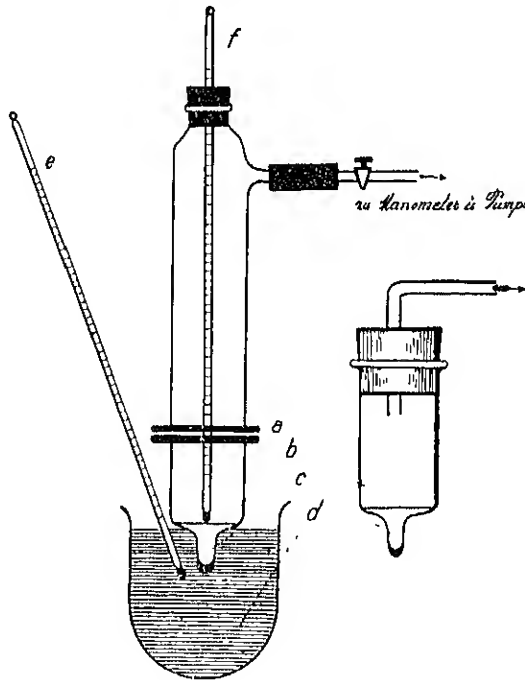


Fig 6.

Apparat zur Mikrosublimation im luftverdünnten Raume,  $\frac{1}{2}$  natürl. Größe a Schliff, b Plättchen, c Nöpfchen mit Substanz, d konzentrierte  $H_2SO_4$ , e und f Thermometer. (Nach EDER.)

## 8. Fluoreszenz.

Im allgemeinen wird man bei botanisch mikrochemischen Untersuchungen nur selten in die Lage kommen, auch die Eigenschaft der

Fluoreszenz zur Diagnose heranzuziehen. In einzelnen Fällen kann aber diese Erscheinung gute Dienste leisten, so beim Nachweis des Chlorophylls, Phykocyanins, Phykocerythrins, Äskulins und einiger anderer Körper. Man kann dabei in folgender Weise vorgehen:

a) Auf eine schwarze Glasplatte wird ein stecknadelkopfgroßes Sandkorn und ein Tropfen der zu untersuchenden Lösung gebracht und beides mit einem Deckglas bedeckt. Auf diese Weise bildet sich ein Flüssigkeitskeil von verschiedener Dicke. Arbeitet man mit einer Chlorophylllösung, so erscheint sie in direktem Sonnenlichte in den dickeren Schichten für das freie Auge blutrot, desgleichen auch unter dem Mikroskop. Mit Hilfe dieses Verfahrens läßt sich die Fluoreszenz des Äskulins mit einem einzigen mikroskopischen Schnitt durch die Rinde von *Aesculus Hippocastanum* demonstrieren. Besonders scharf gestaltet sich der Nachweis, wenn man auf die Flüssigkeit in direktem Sonnenlicht einen Lichtkegel wirft.

b) Ich bediente mich auch mit Vorteil schwarzer Glaskapillaren, 5–10 mm lang, 4 mm breit und von 0,5 mm innerem Durchmesser, die bei der Firma C. Zeiß zu haben sind. Solche Kapillaren aus farblosem Glase wurden bereits von EMICH (V) mit Erfolg verwendet, um die Farbe schwach gefärbter Flüssigkeiten bei axialer Durchleuchtung feststellen zu können. Man füllt eine schwarze Kapillare mit der zu prüfenden Flüssigkeit, stellt die Kapillare vertikal auf einen Objektträger und bedeckt die obere Öffnung rasch mit einem Deckglas, wobei man die Bildung von Luftblasen zu vermeiden hat. Sodann stellt man die auf dem Objektträger stehende Kapillare unter die Mikroskoplinse bei sehr schwacher Vergrößerung (30–50) ein, läßt direktes Sonnenlicht auffallen und beobachtet. Eine Chlorophylllösung erscheint dann im durchfallenden Lichte grün, im auffallenden bei Ausschaltung des Mikroskopspiegels tiefrot. Auch am Rande der Kapillare, wo eine dickere Schicht der Chlorophylllösung häufig haftet, kann die rote Fluoreszenz sehr schön beobachtet werden. Die in den Kapillaren vorhandene Blattgrünmenge ist sicherlich eine außerordentlich geringe und gibt sich trotzdem auf diese Weise durch ihre Fluoreszenz zu erkennen. Die erste Methode (a) ist die bequemere; sie wird, wenn es sich nicht um sehr geringe Flüssigkeitsmengen handelt, ausreichen, was um so angenehmer erscheint, als die schwarzen Kapillaren ziemlich teuer sind. Schwarze, an beiden Polen abgeschliffene Glasperlen können anstatt der Kapillaren verwendet werden; sie sind viel billiger.

### 9. Das polarisierte Licht.

Die Beobachtung der Zellbestandteile im polarisierten Lichte ist für den Mikrochemiker von Bedeutung, wenn auch nicht von jener wie für den Petrographen. Obwohl es sich dabei um eine mikrophysikalische Methode handelt, muß sie doch auch hier berührt werden, da chemische und physikalische Charakteristika sich heute kaum mehr voneinander trennen lassen. Ich setze hier die Kenntnis und die Theorie der Polarisationserscheinungen als bekannt voraus; wer sich dafür mehr interessiert, wird ohnedies Spezialwerke zu Hilfe nehmen müssen, von denen ich besonders die von WEINSCHENK (I) und AMBRONN (I) empfehlen möchte, das letztere besonders deshalb, weil es vorzugsweise botanische Objekte berücksichtigt.

Hier seien nur einige wichtige Punkte hervorgehoben. Das Polarisationsmikroskop unterscheidet sich wesentlich nur dadurch von einem gewöhnlichen, daß es noch zwei Nicolsche Prismen führt. Eines, der Polarisator, befindet sich häufig an Stelle der Blende und ist in den Mantel der Zylinderblende hineingeschoben. Der Polarisator hat die Aufgabe, das vom Spiegel reflektierte (zumeist) gewöhnliche Licht in geradlinig polarisiertes zu verwandeln. Die Ätherteilchen eines gewöhnlichen Lichtstrahles schwingen bekanntlich senkrecht zur Fortpflanzungsrichtung nach allen Richtungen, die des polarisierten Strahles aber nur in einer solchen Ebene. Das zweite Nicolprisma, der Analysator, wird entweder dem Okular drehbar über einen Teilkreis aufgesetzt oder zwischen die beiden Linsen eingesetzt. Wir wollen das Polarisationsmikroskop verwenden, um

1. den Pleochroismus,
2. die Doppelbrechung,
3. die Auslöschungsrichtungen

festzustellen.

1. Unter Pleochroismus versteht man die Verschiedenheit der Färbung in verschiedenen Richtungen eines Kristalls. Zum Nachweis dieser Erscheinung bedient man sich nur eines Nicols, und zwar am besten des Polarisators. Werden pleochroitische Kristalle — ein ausgezeichnetes Objekt hierfür stellen die Carotinkristalle der Wurzel von *Daucus Carota* dar — im Mikroskop betrachtet, während der Polarisator oder der Objektträger gedreht wird, so erscheinen die Carotinkristalle abwechselnd heller oder dunkler, die rhombischen Tafeln bei bestimmter Lage sogar farblos.

2. Die Erkennung der Doppelbrechung. Betrachtet man einen einfach brechenden, d. h. optisch isotropen Kristall oder einen Durchschnit davon bei gekreuzten Nicols, so erleidet das aus dem Polarisator herauskommende geradlinig polarisierte Licht im Kristall keine Veränderung, trifft auf den Analysator, dessen Schwingungsrichtung  $90^\circ$  mit derjenigen der ankommenden Strahlen bildet und wird hier nicht durchgelassen. Der Kristall erscheint daher dunkel, und zwar bleibt er in allen Stellungen bei gekreuzten Nicols dunkel, bei nicht gekreuzten hell.

Doppelbrechende Kristalle, d. h. optisch anisotrope, verhalten sich wesentlich anders, denn sie erscheinen bei gekreuzten Nicols im dunkeln Gesichtsfeld hell. Bei gekreuzten Nicols wird nur dann das aus dem Polarisator austretende Licht den Kristall unverändert passieren, wenn die Schwingungsrichtungen im Kristall genau parallel zu denen in den beiden Nicols liegen. Stehen die genannten Schwingungsrichtungen mehr oder minder schief zu einander, dann leuchten die doppelbrechenden Kristalle auf dunklem Grunde auf, und zwar werden sie bei einer Horizontalrotation des Objektisches um  $360^\circ$  zwischen gekreuzten Nicols viermal abwechselnd hell und dunkel erscheinen. Wenn die Schwingungsrichtungen im Kristall mit denen des Nicols einen Winkel von  $45^\circ$  bilden, erreicht die Helligkeit den höchsten Grad, bei weiterem Drehen nimmt sie ab und geht allmählich in vollkommene Dunkelheit über, womit die Parallelstellung der beiderseitigen Schwingungsrichtungen erreicht ist. Man nennt diese Stellung die Auslöschungsstellung und die Schwingungsrichtung in dem Kristall die Auslöschungsrichtung. Ihre



Feststellung ist für die Ermittlung des Kristallsystems, wie noch mitgeteilt werden wird, oft von sehr großer Bedeutung.

Viele in der Zelle vorhandene Kristalle, Stärkekörner und die meisten Zellwände leuchten bei gekreuzten Nicols auf und geben sich auf diese Weise als doppelbrechende Körper zu erkennen. Nicht selten sind die Kristalle, z. B. die des Kalkoxalats, im Blatte des Tabaks oder der Gräser so klein und undeutlich, daß es von Vorteil erscheint, sie im polarisierten Lichte zu prüfen. Sie leuchten im dunkeln Gesichtsfelde oft in schönen irisierenden Farben auf und verraten so ihre Anwesenheit. Stärkekörner erscheinen nicht bloß hell bei gekreuzten Nicols, sondern sie zeigen auch ein dunkles Kreuz wie ein optisch einachsiger Kristall. Die beiden Arme des Kreuzes fallen mit den Schwingungsebenen der beiden Nicols zusammen und schneiden sich im Kerne des Stärkekorns (Fig. 7). Ist das Korn exzentrisch gebaut, so hat das

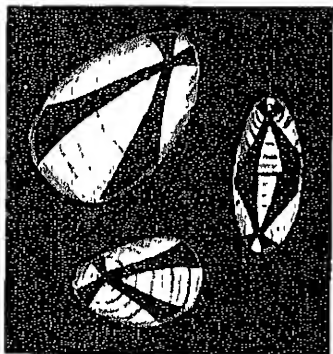


Fig. 7.

Stärkekörner aus der Kartoffelknolle im polarisierten Lichte bei gekreuzten Nicols. Jedes Korn zeigt ein dunkles Kreuz. Rechts ein zweifach zusammengesetztes Korn.

Kreuz gleichfalls eine exzentrische Lage (Kartoffelstärke), ist das Korn konzentrisch, der Kern zentrisch (Weizenstärke), dann treffen sich auch die Arme des Kreuzes im Mittelpunkt des Korns. Das Verhalten der Stärkekörner im polarisierten Licht spricht sehr für die Auffassung A. MEYERS, daß sie als Sphärokristalle anzufassen sind, denn echte Sphärite, wie die des Inulins, des Calciumphosphats und andere, verhalten sich genau so.

3. Die Auslöschungsrichtungen. Wird ein doppelbrechender Kristall zwischen gekreuzten Nicols betrachtet, während der Objektisch um  $360^\circ$  gedreht wird, so erscheint der Kristall meist in vier Lagen dunkel, von denen je zwei senkrecht aufeinander stehen. Diese Richtungen heißen die Auslöschungsrichtungen.

Läuft diese Auslöschungsrichtung einer Kristallkante parallel bzw. auf diese senkrecht, so spricht man von gerader Auslöschung in bezug auf diese Kante, von schiefen aber, wenn die Auslöschungsrichtungen mit einer Kante einen von  $0^\circ$  und  $90^\circ$  verschiedenen Winkel einschließen (Fig. 8). Für derartige Bestimmungen wählt man gewöhnlich eine der Hauptkanten, nach welcher der Kristall vorwiegend entwickelt ist. Der Winkel, den die Auslöschungsrichtung mit der erwähnten Kristallkante bildet, heißt die Auslöschungsschiefe.

Will man sich über das Kristallsystem orientieren, so hat man nicht bloß auf die Gestalt und die Doppelbrechung, sondern auch auf die Auslöschungsrichtung zu achten, wie aus folgenden Punkten, die ich der „Anleitung zum Bestimmen der Mineralien“ von FUCHS-BRAUNS (1) entnehme, hervorgeht.

- „1. Alle Kristalle bleiben bei gekreuzten Nicols in jeder Lage dunkel; sie sind einfach brechend, regulär (Cäsinmalaun).

2. Die meisten Kristalle werden zwischen gekreuzten Nicols hell (oft nur grau) und farbig und besitzen gerade Auslöschung, einzelne bleiben in allen Lagen dunkel; sie sind doppelbrechend und optisch einachsig. Man hat weiter den Umriß der dunkel bleibenden Kristalle zu beachten:

a) der Umriß der dunkel bleibenden Kristalle ist vierseitig (oder achtseitig), quadratisch, die Kristalle sind quadratisch [tetragonal] (Calcium-oxalat);

b) der Umriß ist sechsstufig, die Kristalle sind hexagonal (Kieselfluornatrium);

c) der Umriß der dunkel bleibenden Kristalle ist dreiseitig, die Kristalle sind rhomboedrisch (Natronsalpeter).

3. Alle Kristalle werden zwischen gekreuzten Nicols hell (oft nur grau) und farbig, sie sind optisch zweiachsig

a) alle besitzen gerade Auslöschung, sie sind rhombisch (Chlorblei).

b) die meisten besitzen schiefe Auslöschung, einige gerade Auslöschung, sie sind monoklin (Gips);

c) alle Kristalle zeigen schiefe Auslöschung, sie sind triklin (Kupfervitriol).“

Bezüglich der Verwendung der Gipsplättchen zur genaueren Charakteristik der doppelbrechenden Kristalle sowie bezüglich der Details in der Handhabung des Polarisationsmikroskops sei auf die bereits erwähnten Spezialwerke von AMBRONN und WEINSTEIN verwiesen.

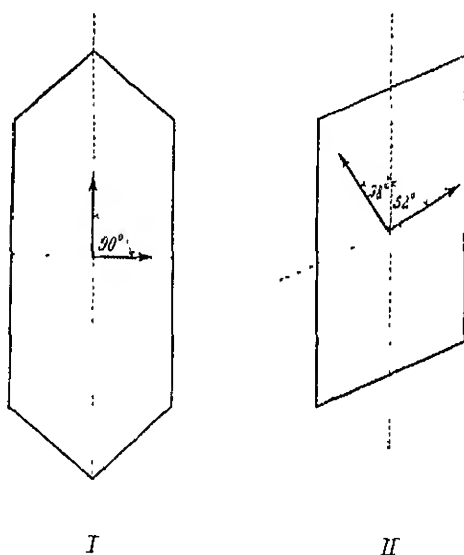


Fig. 8

I Gerade Auslöschung. II Schiefe Auslöschung

## Literatur

zu p. 1 bis 35

Ambronn, H., I. Anleitung zur Benutzung des Polarisationsmikroskops. 1892.  
 Behrens, H., I. Anleitung zur mikrochemischen Analyse. 2. Aufl. Hamburg u. Leipzig 1899.

—, II. Mikrochemische Analyse organischer Verbindungen. Heft I—IV, 1895—1897. Hamburg u. Leipzig.

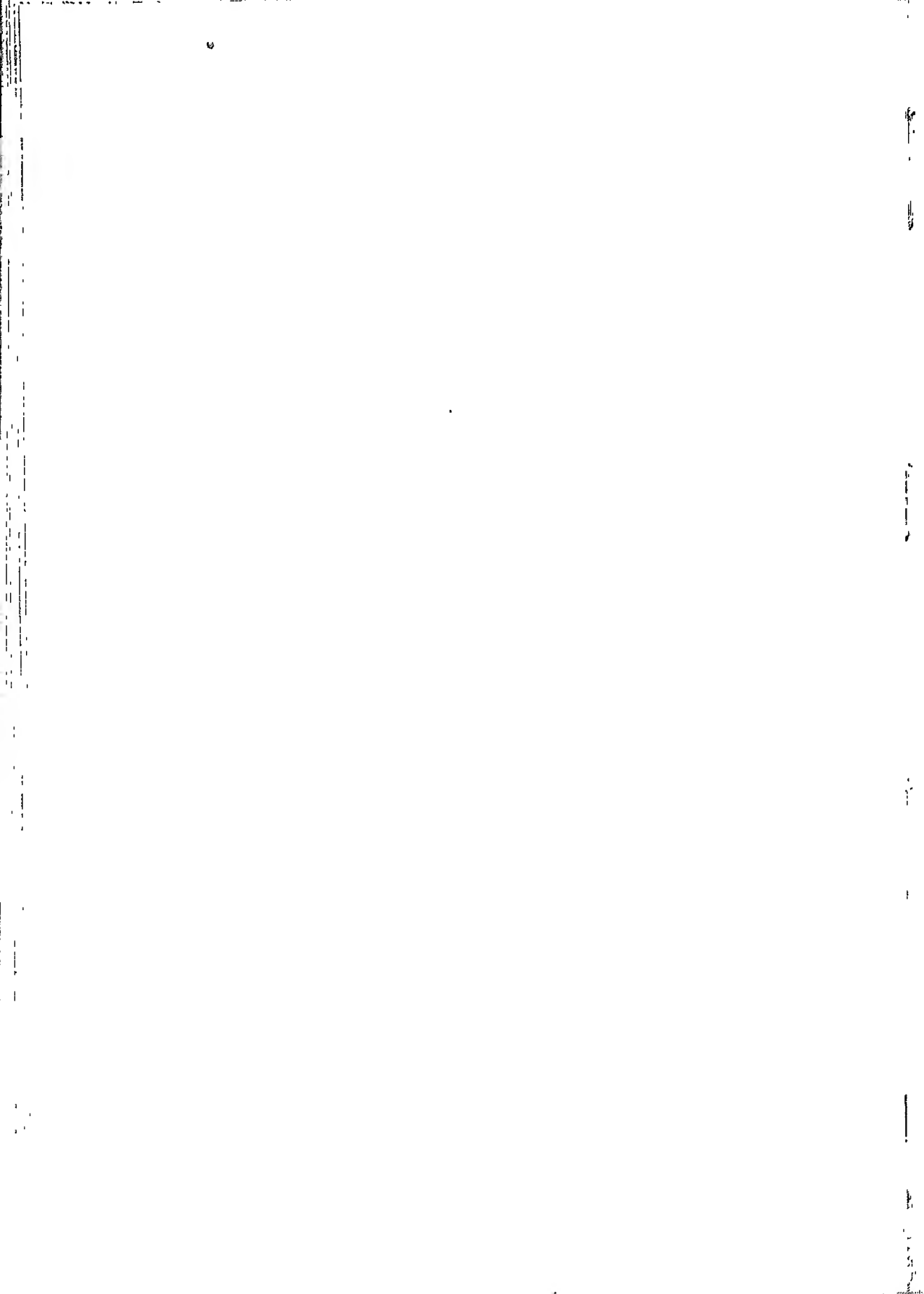
- Behrens, W., I. Hilfsbuch zur Ausführung mikroskopischer Untersuchungen im botanischen Laboratorium. Braunschweig 1883.
- , II. Tabellen zum Gebrauch bei mikrochemischen Arbeiten. Leipzig 1908. 4. Aufl. p. 112.
- Bořický, I. Elemente einer neuen chemisch-mikroskopischen Mineral- und Gesteinsanalyse. (Archiv d. naturw. Landesdurchforschung i. Böhmen. 1877. Bd III. Prag.)
- Borodin, J., I. Über die physiologische Rolle und die Verbreitung des Asparagins im Pflanzenreiche. (Bot. Ztg. 1878.)
- Classen, A., I. Handbuch der qualitativen chemischen Analyse. 6. Aufl. Stuttgart 1905, p. 308.
- Czapek, J., I. Biochemie der Pflanzen. 2 Bde. Jena 1905. Jetzt in 2. Aufl. begriffen.
- Cruger, H., I. Westindische Fragmente. (Bot. Ztg. 1857, 15. Jg.)
- Eder, R., I. Über die Mikrosublimation von Alkaloiden in luftverdünntem Raum. Diss. 1912, Zürich.
- Emich, F., I. Mikrochemischer Nachweis von Alkalien und Säuren usw. (Sitzber. d. Kais. Akad. d. Wiss. in Wien 1901, Bd. CX, Abt. IIb, p. 612.)
- , II. Notizen über die Lackmusseide. (Ebenda, p. 1138.)
- , III. Über die Anwendung von Gespinnstfasern in der mikrochemischen Analyse anorganischer Stoffe. (Liebe-Festschrift, p. 651.)
- , IV. Lehrbuch der Mikrochemie. Wiesbaden 1911.
- , V. Ein einfaches Verfahren zur Ermittlung der Farbe kleiner Mengen von schwach gefärbten Flüssigkeiten usw. (Sitzber. d. Kais. Akad. d. Wiss. in Wien 1907, Bd. CXXVI, Abt. IIb, p. 727.)
- Faltis, F., I. Über die Gruppe der Opiumalkaloide und die Konstitution des Berberins und Morphins (Pharm. Post [Wien] 1906, No. 31—32.)
- Fresenius, R., I. Anleitung zur qualitativen chemischen Analyse. 16. Aufl. Braunschweig 1895.
- Fuchs-Brauns, I. Anleitung zum Bestimmen der Mineralien. Gießen 1907, p. 71.
- Giltay, N., I. Über das Verhalten von Hämatoxylin gegen Pflanzenmembranen (Sitzungsber. d. K. Akad. d. Wiss. Amsterdam. 1883, Sitz. v. 27. Okt.)
- Grafe, V., I. Einführung in die Biochemie. Leipzig u. Wien 1913
- Greshoff, I. Ber. d. Deutsch. Pharm. Ges. III (1893).
- Guy, W. A., I. On the melting and subliming temperatures of the principal poisons organic and anorganic, Pharm. Journ. and Trans., 1867, 2. ser IX, p. 370
- Hanausek, T., I. Untersuchungen über die kohleähnliche Masse der Kompositen (Denkschr. d. Kais. Akad. d. Wiss. i. Wien. 1911, Bd. 87, p. 91)
- Hartig, Th., I. Entwicklungsgeschichte des Pflanzenkeims. 1858, p. 151
- Hanshofer, K., I. Mikroskopische Reaktionen. Braunschweig 1885
- Holwig, A., I. Die Sublimation der Alkaloide und ihre mikroskopische Verwertung für die differentielle Diagnose derselben. (Zeitschr. f. anal. Chemie, Bd. III, 1864.)
- , II. Das Mikroskop in der Toxikologie. Mainz 1865.
- Höhnelt, F. v., I. Über den Kork und verkorkte Gewebe überhaupt. (Sitzber. d. Kais. Akad. d. Wiss. i. Wien 1877, Bd LXXVI, p. 663.)
- Hof, A. C., I. Untersuchungen über die Topik der Alkaliverteilung in pflanzlichen Geweben (Bot. Zbl. 1900, Bd. 83, p. 273.)
- Klément, C., et Rénard, A., I. Réactions microchim. à cristaux et leur application en analyse qualitative. Bruxelles 1886.

- Krasser, F., I. Untersuchungen über das Vorkommen von Eiweiß usw. (Sitzber. d. Kais. Akad. d. Wissensch. in Wien. 1886, Bd. XCIV, p. 140.)
- Kraus, G., I. Botan. Mitteilungen. (Aus d. Abhandl. d. Naturforsch. Ges. z. Halle. Bd. XVI, 1885, p. 16)
- Kny, L., I. Die Abhängigkeit der Chlorophyllfunktion von den Chromatophoren und vom Cytoplasma. (Ber. d. Deutsch. Bot. Ges. 1897, Bd. XV)
- Liesegang, R. F., Exogene Füllungen bei der histologischen Färbung. Zeitschr. f. wiss. Mikroskopie. Bd. 31, Jg. 1914, p. 466)
- Mangin, L., I. Sur les réactifs iodés de la cellulose. (Bull. d. 1. Soc. bot. de France 1888, t. 35, p. 421 Refer in Zeitschr. f. Mikr. 1889, Bd. VI, p. 242)
- Merck, V., I. Reagentien-Verzeichnis, enthaltend die gebräuchlichsten Reagentien und Reaktionen, geordnet nach Autornamen. 4. Aufl. Berlin 1916.
- Meyer, A., I. Das Chlorophyllkorn. Leipzig 1883, p. 29.
- Mitlacher, W., I. Zur Mikrochemie einiger Emodindrogen. (Pharm. Praxis, 1906, Heft 11.)
- Molisch, H., Grundriß omer Histochemie der pflanzlichen Genußmittel. Jena 1891.
- , II. Das Vorkommen und der Nachweis des Indikans in der Pflanze usw. (Sitzber. d. Kais. Akad. d. Wiss. i. Wien, 1893, Bd. CII, Abt. I, p. 269.)
- , III. Indigo. In Wiesners Rohstoffe des Pflanzenreichs usw. 2. Aufl., 1903, Bd. I, p. 423
- , IV. Aschenbild und Pflanzenverwandtschaft. (Sitzber. d. Akad. d. Wiss. i. Wien. Abt. I, 129, Bd. 1920)
- , V. Das lebende Reagens. Vortrag, gehalten i. d. Jahressitzung d. Akad. d. Wiss. i. Wien am 1. Juni 1921 (Almanach).
- Moll, J. W., I. Die Fortschritte der mikroskopischen Technik seit 1870 (Progress der bot. Jena 1908, Bd. II, p. 227)
- Naumann, E., I. Mikrotekniska Notiser. 1915, p. 19.
- Nestler, A., I. Ein einfaches Verfahren des Nachweises von Thein und seine praktische Anwendung (Zeitschr. f. Unters. d. Nahrungs- u. Genußmittel, Berlin 1901, Heft 2)
- , II. Der direkte Nachweis des Cumarins und Theins durch Sublimation. (Ber. d. Deutsch. Bot. Ges. 1901, Bd. XIX, p. 350)
- , III. Ein einfaches Verfahren zum Nachweise der Benzoesäure in der Preiselbeere und Moosbeere (Ebenda 1909, Bd. XXVII, p. 63)
- , IV. Praktische Anwendungen der Sublimation (Zeitschr. f. Unters. der Nahrungs- u. Genußmittel usw. 1903, Heft 9)
- Nickel, E., I. Die Farbenreaktionen der Kohlenstoffverbindungen. Berlin 1890, 2. Aufl., p. 7.
- Nowopokrowsky, J., I. Über die Chlorzinkjodreaktion der Zellulose. (Beih. z. Bot. Zbl. 1912, Bd. XXVIII, p. 90.)
- Pfeffer, W., I. Über Aufnahme von Anilinfarben in lebenden Zellen. (Untersuchungen a. d. botan. Institut. z. Tübingen. 1886, Bd. II)
- , II. Über Aufnahme und Ausgabe gelöster Körper 1890. (Abh. d. math.-physik. Kl. d. K. sächsischen Ges. d. Wiss. Bd. XVI, No. 2.)
- Progl, F., Die quantitative Mikroelementaranalyse organischer Substanzen. In E. Abderhaldens „Handbuch d. bioch. Arbeitsmethoden“. Bd. V.
- Richter, O., Die Fortschritte der botanischen Mikrochemie usw. Sammelreferat (Zeitschr. f. wiss. Mikroskopie usw. 1905, Bd. XXII, p. 194—261.)
- , I. Untersuchungen über das Magnesium in seinen Beziehungen zur Pflanze. I. Teil. (Sitzber. d. Kais. Akad. d. Wiss. i. Wien 1902, Bd. CXI, Abt. I. p. 171.)

- Rochleder, I. *Phytochemie*. Leipzig 1854.
- , II. *Chemie und Physiologie der Pflanze*. Heidelberg 1858.
- Rosenthaler, L., I. *Pyroanalyse der Drogen*. (Ber. d. Deutsch. Pharm. Ges. Bd. XXI, 1911, p. 338.)
- Schiff, I. *Liebigs Annalen der Chemie*. 110, 181 (1866).
- Schimper, A. F. W., I. *Über Bildung und Wanderung der Kohlenhydrate in den Laubblättern*. (Bot. Ztg. 1885, p. 739.)
- Schwarz, F., I. *Die morphologische und chemische Zusammensetzung des Protoplasmas*. (Cohns Beitr. z. Biologie d. Pflanzen, 1892, Bd. V.)
- Senft, E., I. *Über das Vorkommen von „Physcion“ in den Flechten usw.* (Wiesner-Festschrift, p. 176.)
- Solereder, H., I. *Systematische Anatomie der Dikotyledonen*. Stuttgart 1899.
- Strasburger, E., I. *Das botanische Praktikum*. Jena 1897, 3. Aufl., p. 687.
- Streng, I. *Berichte der oberhessischen Gesellschaft f. Natur- und Heilkunde*, Bd. XXII, XXIV.
- , II. *Anleitung zum Bestimmen der Mineralien*. Gießen 1890.
- Tammes, T., I. *Notiz über das Vorkommen von Dipsacae bei den Dipsaceae* (Rec. d. Trav. Bot. Néerl. 1911, Vol. VIII, p. 309.)
- Thoms, I. *Probleme zur Phytochemie*. (Berliner Apothekerzeitung 1911.)
- Tschirch, A., I. *Die Chemie und Biologie der pflanzlichen Sekrete*. Leipzig 1908.
- Tunmann, O., I. *Bemerkungen über einige Kryptogamen-Drogen*. (Schweizerische Wochenschr. f. Chem. u. Pharm. 1910, No. 49, p. 740.)
- , II. *Über angewandte Pflanzenmikrochemie und neue Untersuchungen auf diesem Gebiete*. (Pharm. Post [Wien] 1911.)
- , III. *Zur Mikrochemie der Colombowurzel* (Apothekerzeitung [Berlin] 1912, No. 29.)
- , IV. *Zur Mikrochemie und Mikrosublimation einiger Methanderivate*. (Ebenda, No. 99, 100.)
- Weinschenk, E., I. *Anleitung z. Gebrauch d. Polarisationsmikroskops*. Freiburg i. Br. 1910.
- Wottstein, R. v., I. *Handbuch der systematischen Botanik*. Leipzig u. Wien 1911, 2. Aufl., p. 31.
- Wiesner, J. v., I. *Über die chemische Beschaffenheit des Milchsaftes der Euphorbia-Arten*. (Sitzber. d. Kais. Akad. d. Wiss. i. Wien 1912, Bd. CXXI, Abt. I, p. 79.)
- , II. *Note über das Verhalten des Phloroglucins und einiger verwandter Körper zur verholzten Zellmembran*. (Ebenda 1878, Bd. LXXVII, Abt. I, Januarheft.)
- , III. *Über die Einwirkung des Kupferoxydammonials auf tierische Gewebe usw.* (Ebenda 1903, Bd. XLVIII, Abt. II, p. 199.)
- , IV. *Über den mikroskopischen Nachweis der Kohle usw.* (Sitzber. d. Kais. Akad. d. Wiss. i. Wien 1892, Bd. CI, Abt. I, p. 381.)
- , V. *Die technisch verwandten Gummarten, Harze und Balsame*. Erlangen 1869.
- Zellner, J., I. *Zur Chemie der höheren Pilze*. (Sitzber. d. Kais. Akad. d. Wiss. i. Wien 1910, Bd. CXIX, Abt. IIb, p. 459.)
- , II. *Über die Chemie der Pilze usw.* (Österr. Chemik.-Ztg. 1911, p. 137.)
- Zimmermann, A., I. *Die Botanische Mikrotechnik*. Tübingen 1892, p. 138.
- , II. *Die Morphologie und Physiologie des pflanzlichen Zellkernes*. Jena 1906, p. 7.
- Zopf, W., I. *Die Flechtstoffe*. Jena 1907, p. 350.

B.

## SPEZIELLER TEIL



## A.

# Anorganischer Teil.

## a) Kationen.

### 1. Eisen.

Das Eisen ist im Pflanzenreiche allgemein verbreitet. Es ist wahrscheinlich in jeder Zelle vorhanden, kann aber gewöhnlich darin mit den üblichen Eisenreaktionen direkt nicht nachgewiesen werden, da es in organischer Bindung als sogenanntes maskiertes Eisen vorliegt. Fast alles Eisen der Pflanze kommt in solcher maskierter Form vor<sup>1)</sup> (MOLISCH I, 44 und II; E. MEYER I). Verascht man die Gewebe, so läßt sich das Eisen in der Asche leicht nachweisen. Neben diesem, gewissermaßen versteckten Eisen gibt es aber auch in der Pflanze, wenn auch viel weniger häufig, locker gebundenes Eisen bzw. anorganisches Eisen, das mit den gewöhnlichen Eisenproben direkt im Gewebe leicht nachgewiesen werden kann

## I.

### Nachweis des locker gebundenen bzw. anorganischen Eisens.

#### 1. Die Blutlangensalzprobe.

a) Die Ferriverbindungen werden als Ferriferrocyanid  $\text{Fe}_3$ ,  $3 \text{ Fe} (\text{CN})_6$  (Berlinerblau) durch gelbes Blutlangensalz gefällt. Diese Reaktion eignet sich deshalb so ausgezeichnet für histochemische Zwecke, weil das Berlinerblau in unlöslicher Form am Orte seiner Entstehung liegen bleibt und daher den Sitz des Eisens in der Zelle anzeigt.

Zarte Objekte, Algenfäden, dünne Schnitte legt man auf einem Objektträger in einen Tropfen gelber Blutlangensalzlösung und fügt einen Tropfen verdünnter Salzsäure hinzu. Ferrisalze werden sich hierbei sofort durch eine Blaufärbung oder, wenn nur Spuren davon vorhanden sind, durch eine blaugrüne Färbung zu erkennen geben. Die beiden Reagentien dürfen in nicht zu konzentriertem Zustand verwendet werden, weil sie sonst leicht zur Bildung von an der Luft sich rasch bläuender Ferrocyanwasserstoffsäure Veranlassung geben könnten.

1) Dies wurde seinerzeit von C. MÜLLER (I) bestritten, aber alle späteren Untersuchungen über das Eisen der Pflanze haben mir Recht gegeben.



Ich verwende in der Regel eine 2proz. Blutlaugensalzlösung und eine höchstens 5proz. Salzsäure. Die zu untersuchenden Objekte müssen zunächst von Kaliumferrocyanid ganz durchtränkt werden. Darauf muß besonders bei dickeren Pflanzenteilen, z. B. bei Samen und Blättern, wenn sie in toto untersucht werden sollen, geachtet werden. Man lasse zu diesem Zwecke die Objekte in kleinen verschließbaren Glasdosen mit gelber Blutlaugensalzlösung 1 bis 24 Stunden, je nach Bedarf, liegen. Dann läßt man die Salzsäure entweder direkt auf den Objektträger oder bei dickeren Objekten wieder in Glasdosen einwirken. Gewöhnlich tritt bei Gegenwart von Eisen schon unmittelbar nach der Übertragung in Salzsäure die Blaufärbung ein, nur bei dickeren Pflanzenteilen läßt sie wenige Minuten auf sich warten. Sowie die Salzsäure das Objekt völlig durchdrungen hat, ist ihre weitere Einwirkung zu unterbrechen und das Präparat nach dem Auswaschen in destilliertes

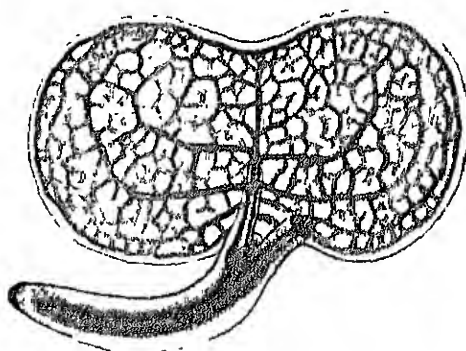


Fig. 9.

*Sinapis alba.*

Embryo, ein Kötyledo wurde weggeschnitten. Nach Ausführung der Blutlaugensalzprobe erscheint das früher unsichtbare Prokambiumnetz in Form eines blauen (in der Figur schwarzen) Gefäßes, weil in diesem locker gebundenes Eisen lokalisiert auftritt. Vögr. 18.

Wasser einzubetten. Bei längerem Kontakt der Salzsäure mit dem Blutlaugensalz könnte die erstere aus letzterer schon allein Ferrocyanwasserstoffsäure  $\text{H}_1(\text{CN})_6\text{Fe}$  als weißen Niederschlag füllen, der sich an der Luft rasch oxydiert und hierbei in Berlinerblau übergeht.

b) Die Ferroverbindungen. Diese prüft man mit Ferrieyankalium oder rotem Blutlaugensalz. Es gibt mit Eisenoxydulverbindungen einen blauen Niederschlag von Turnbullsblau, mit Ferroverbindungen aber nicht. Ich verwende auch in diesem Falle eine 2proz. Lösung des Salzes und eine 5proz. Salz-

säure. Bei kleinen Eisenmengen läßt die Reaktion einige Minuten auf sich warten. Indem man ein Gewebe zuerst mit gelbem und eine zweite Probe davon mit rotem Blutlaugensalz prüft, wird man alsbald sehen, ob locker gebundenes Eisen überhaupt und ferner, ob es in Oxyd-, Oxydul- oder in Oxydoxydulform vorhanden ist.

## 2. Andere Eisenreaktionen

bieten, obwohl manche an Empfindlichkeit nichts zu wünschen übrig lassen, nicht jene Vorteile wie die Blutlaugensalzprobe. Die Reaktion mit Rhodankalium (Weis und Wiesner I) deshalb nicht, weil das entstehende blutrote Ferrisulfocyanat in Lösung bleibt, sich im Präparat und Beobachtungstropfen rasch verteilt und mithin über den Sitz des Eisens in der Zelle nichts Bestimmtes aussagt. Zudem ruft die mit diesem Reagens zur Anwendung kommende Salzsäure mit verschiedenen in der Pflanze vorkommenden Farbstoffen, Chromogenen

und mit verholzten Membranen unter gewissen Umständen Rotfärbungen hervor, die leicht zu Täuschungen Veranlassung geben können.

Noch weniger geeignet für mikroskopische Zwecke sind die anderen bekannten Eisenreaktionen, so die mit Salicylsäure (Violettffärbung), Tannin (Schwarzfärbung), Hämatoxylin (Violettffärbung) und Schwefelammonium. Immerhin können die genannten Reaktionen, insbesondere die zuletzt erwähnte, in vielen Fällen, weil sie das Eisen lokal anzeigt, zur Kontrolle neben der Blutlaugensalzprobe mit Vorteil herangezogen werden.

**Beispiele.** Als Objekte, die sich für den Eisennachweis besonders eignen, führe ich an Die Eisenbakterien, die bekanntlich in ihrer gallertigen Scheide Eisenoxydhydrat in reichlicher Menge führen (MOLISCH III), gewisse Algen, wie Conferva-Arten (*Psichodermum*), die ihre Membran mit Gürteln von Eisenoxyd bedecken, Closterium-Arten, deren Membranen oft reichlich Eisen führen, gewisse Flagellaten, z. B. *Trachelomonas*, die Eisenflechten, die Blätter von *Fontinalis antipyretica*, die Fruchtschale von *Trapa natans* und viele Samen. Gerade der direkte mikrochemische Nachweis des Eisens im Samen erscheint ungemein lehrreich und beachtenswert, wie aus folgendem Fall hervorgeht.

Der Samen von weißem Senf, *Sinapis alba*, besteht aus der Samenschale, aus den zwei Keimblättern und dem Wurzelchen des Embryo. Nach der Quellung des Samens läßt sich der Embryo durch leichten Druck aus der Samenschale herausquetschen und in die einzelnen Teile zerlegen. Unterwirft man den Embryo oder dessen Organe der Blutlaugensalzprobe, so erhält man ein auffallendes und überraschend schönes Bild: das vorher unsichtbare Prokambiumnetz der Keimblätter tritt als blaues zierliches Gitter mit großer Deutlichkeit in Erscheinung, genau so, als ob man dasselbe mit irgendeinem blauen Farbstoff ausgefärbt hatte (Fig. 9). Hier kann die Eisenprobe tatsächlich dazu benutzt werden, den Verlauf der Gefäßbündelanlagen zur Anschauung zu bringen (MOLISCH I, 37). Mit Schwefelammonium wird das Adernetz durch Bildung von Eisensulfid dunkelgrün (WIENER I 15).

## II

### Nachweis des maskierten bzw. organischen Eisens

**Mit Schwefelammonium.** Man verfährt nach MACALLUM (I, 781 und II, 280) in der Weise, daß man einige durch Zerzupfen mit Gänsekiesspitzen isolierte Zellen von in Alkohol gehaltetem Gewebe auf einem Objektträger in eine Mischung von gleichen Teilen frisch hergestellten Schwefelammoniums (aus 0,96% starkem Ammoniak gemachten  $\text{NH}_4\text{HS}$ ) und 50proz. Glycerin bringt, mit einem Deckglas bedeckt und dann je nach Bedarf einige Tage bis einige Wochen bei 60° C hält. Während dieser Zeit wird das Eisen demaskiert und gibt sich als Ferrosulfid durch seine grüne bis grünschwarze Farbe zu erkennen. Auf diese Weise ist es ihm gelungen, das Eisen speziell im Chromatin der Zellkerne bei Tier- und Pflanzenzellen nachzuweisen.

Nach GILSON (I) läßt sich das maskierte Eisen in den Zellkernen auch nachweisen, wenn man die Kerne mit schwefelsaurem oder schwefeligsanem Anhydrid ohne Zeitlang behandelt; dann geben die chromatischen Teile mit Ammoniumsulfid sofort die grünlich-schwarze und mit einer sauren Lösung von Ferrocyankalium eine intensiv blaue Farbe.

WIENER (I) hat die Angaben MACALLUMS einer kritischen Prüfung unterworfen und kommt zu dem Schlusse, daß dessen Befunde auf Versuchsfehlern be-

ruhen und das Eisen, das er in Zellkern und anderen Pflanzenobjekten nachweisen konnte, aus den verwendeten, nicht ganz eisenfreien Reagentien herrührte. Nach der ganzen Sachlage gewinnt WIENER die Ansicht, daß wir derzeit noch kein verlässliches Mittel zum lokalen Nachweis maskierten Eisens besitzen.

Vorläufig gelingt dieser Nachweis nur indirekt, indem man das Gewebe vorascht und dann auf Eisen in gewöhnlicher Weise prüft. Besonders zu betonen ist, daß die bei den Reaktionen notwendigen Instrumente, wenn möglich, nicht aus Eisen bestehen und die Reagentien eisenfrei sein sollen. Anstatt des gewöhnlichen Skalpell und der gebräuchlichen Rasirmesser bediente man sich, wenn Schnitte notwendig sind, analoger Instrumente aus Aluminiumbronze. In Ermangelung solcher Messer gebrauche man nur ganz blank e Stahlmesser. Zum Übertragen der Objekte auf den Objektträger verwende ich anstatt der Stahlmesser kleine, zu einer Spitze ausgezogene Glasstäbchen. Wenn diese Vorsichten außer acht gelassen werden, so können leicht Täuschungen unterlaufen. Es können aus den Reagentien (MOJLISCH II), aus dem Glase (MULLER I), aus den Messern und Nadeln leicht Spuren von Eisen in die Zellen gelangen, was um so mehr zu beachten ist, als gewisse Teile, wie verholzte Membranen, Globeide und andere Zellbestandteile ein großes Speichervermögen für Eisenverbindungen besitzen und dann die Anwesenheit von Eisen vortäuschen. Vgl. auch ZACHARIAS (I).

## 2. Aluminium.

### Nachweis.

#### 1. Fällung als Cäsiumalaun, $\text{Cs}_2\text{SO}_4 \cdot \text{Al}_2(\text{SO}_4)_3 + 24\text{H}_2\text{O}$ .

Nach BEHRENS (I, 99) versetzt man den Probetropfen mit einem Tröpfchen Schwefelsäure, dampft ab, nimmt den Rückstand in wenig Wasser auf und setzt nahe am Rande ein Körnchen Cäsiumchlorid hinzu. Bei sehr verdünnten Lösungen entstehen dann beim Verdunsten Oktaeder. Bei mehr als 1% Aluminium entstehen am Rande rechtwinklig-dendritische Formen. Es empfiehlt sich, an solchen Stellen ein Tröpfchen Wasser hinzuzufügen. Bei weniger als 0,2% Aluminium nimmt man, falls man gute Kristalle erhalten will, den Probetropfen vorher konzentrierter und läßt dann nach Ausführung der Reaktion an freier Luft oder im Exsikkator verdampfen. Der Probetropfen soll etwas freie Schwefelsäure, aber in keinem zu großen Überschuß enthalten.

Nach STRENG kann das Cäsiumchlorid passend durch Cäsiumsulfat ersetzt werden, weil es rascher Kristalle liefert und ein Übermaß von Schwefelsäure unnötig macht.

Um die Reaktion in Zellen oder Gewebeschnitten auszuführen, empfiehlt es sich nicht, die Schwefelsäure abzdampfen, weil dadurch der Schnitt zu sehr in Mitleidenschaft gezogen wird. KRATZMANN (I), der sich speziell mit dem mikrochemischen Nachweis des Aluminiums in der Pflanze beschäftigte, geht aber in etwas anderer Weise vor, indem er ein fertiges Gemisch von gleichen.

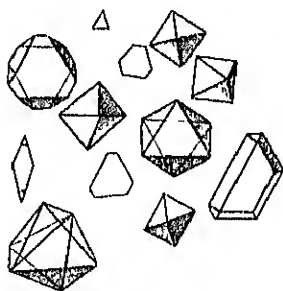


Fig 10.  
Kristalle von Cäsiumalaun.  
Vergr 285.

Mengen einer 2mol. (33%) Lösung von Cäsiumchlorid und einer 8mol. (39%) von Schwefelsäure verwendet. Wird mit diesem Reagens ein Tröpfchen einer Aluminiumsalzlösung mit einem gleich großen des eben erwähnten Gemenges zusammengebracht, so entstehen entweder sofort oder nach einigen Minuten die in der Fig. 10 abgebildeten Cäsiumalaunkristalle, zunächst am Rande des Tropfens, später bei reichlicheren Mengen von Aluminium auch in der Mitte. Es sind farblose Oktaeder von 8 bis 90  $\mu$ , die häufig eine tafelförmige Ausbildung zeigen. Die Empfindlichkeitsgrenze dieser Art des Nachweises liegt nach KRATZMANN bei 0,5 bis 0,3  $\mu$ g Aluminium

## 2. Fällung als Ammoniumaluminiumfluorid, $(\text{NH}_4)_3\text{AlF}_6$ .

Ammoniumfluorid fällt nach BEHRENS (I, 100) im Probetropfen bei Gegenwart von nicht zu geringen Mengen Aluminium blasse, wohl ausgebildete Oktaeder. Im Gegensatz zu der sehr empfindlichen und brauchbaren Cäsiumprobe hat die Ammoniumfluoridprobe bei Verwendung von Schnitten keine befriedigenden Resultate ergeben und kann daher hier nicht empfohlen werden.

### Vorkommen.

Obwohl Aluminium kein notwendiger Bestandteil der Pflanzennahrung ist, ist es doch im Pflanzenreiche weit verbreiteter als man früher angenommen hat. Die Frage der Verbreitung bedarf aber nach ROTHERT (I) einer gründlichen Nachuntersuchung, da nur wenige mikrochemische Analysen vorliegen und die makrochemischen Untersuchungen nicht einwandfrei sind, indem man vor der Analyse die den Wurzeln anhängenden Bodenteile nicht sorgfältig entfernte und nicht beachtete, daß, wie ROTHERT (I) fand, die Aluminiumverbindungen gewöhnlich in den Wurzeln zurückgehalten werden, diese aber oft gar nicht analysiert worden sind.

Inzwischen ist die vorhandene Lücke durch die Arbeit von KRATZMANN (I) ausgefüllt worden. Er hat 130 den verschiedensten phanerogamen und kryptogamen Familien angehörende Pflanzen mikrochemisch untersucht und das Aluminium fast allgemein verbreitet gefunden. Beziehungen zwischen Aluminiumgehalt und systematischer Verwandtschaft ließen sich nicht feststellen. Die eine Art einer Gattung kann sehr viel, eine andere Art derselben Gattung sehr wenig oder gar kein Aluminium enthalten. Interessant ist, daß manche Kryptogamen Aluminium hauptsächlich in den Sporophyllständen (*Equisetum arvense*) oder in den fetilen Blattabschnitten (*Aspidium filix mas*) speichern.

Auffallend ist, daß manche Pflanzen man könnte sie „Aluminiumpflanzen“ nennen — ganz kolossale Mengen von Aluminium speichern. So die meisten nicht epiphytisch lebenden Lycopodien, einige Baumfarne, die Gattung *Symplocos* mit 46—48% Tonerde in der Asche der Blätter, die *Proteaceae* *Orites excelsa* R. Br. mit 36—43%, in einem Falle sogar mit 79,61%  $\text{Al}_2\text{O}_3$  in der Asche des Holzes.

*Symplocos*. RADLKOFER (I) fand in den Palisadenzellen der Blätter von *Symplocos lanceolata* (MART) A. DC. eigentümliche Inhaltskörper, die er für eine Tonerdeverbindung hält. Sie stellen an Blattquerschnitten nach Aufhellung mit JAVELLEScher Lauge brockige, schollen- oder kuchenförmige farblose Körper dar von unregelmäßigem, bald mehr eckigem, bald mehr rundlichem Umriß. Sie liegen in den Palisadenzellen zu mehreren übereinander, lösen sich in konzentrierter Schwefelsäure ohne Bildung von Gipsnadeln, bestehen daher weder aus

Kalk noch aus Kieselsäure. Da RUMPHIUS eine auf Amboina einheimische *Symplocos*art als Alaunbaum oder *Arbor aluminosa* bezeichnet und seiner Beschreibung die Bemerkung beifügt, daß dessen Rinde und Blätter an Stelle von Alaun als Beize beim Färben verwendet werden, kam RADLKOEFER auf die Vermutung, daß die fraglichen Körper ihrer feuerbeständigen Grundlage nach aus Tonerde bestehen dürften. Dafür sprach zunächst die Tatsache, daß der Inhaltkörper vor dem Glühen in Schwefelsäure leicht löslich war, nach dem Glühen aber nicht. Eine makrochemische Untersuchung zeigte, daß die Blattasche fast genau zur Hälfte aus Tonerde bestand. Da sich die fragliche Substanz außerdem mit alkoholischer Brasilin- und Alizarinlösung genau so wie Tonerdehydratpartikelchen färbt, so kommt RADLKOEFER zu dem Schlusse, daß die geschilderten Ablagerungen einer Tonerdeverbindung angehören.

KRATZMANN hat mehrere Spezies der Gattung *Symplocos* untersucht, die von RADLKOEFER und WEINERT (I) beschriebenen Tonerdekörper aber nur bei *Symplocos polystachya* und *S. lanceolata* auffinden können. KRATZMANN hält es nicht für erwiesen, daß die fraglichen Körper wirklich aus Tonerde bestehen und hält es für sehr wahrscheinlich, daß sie, da sie nach dem Glühen ganz unlöslich sind, auch Kieselsäure enthalten. Weitere Untersuchungen wären darüber erwünscht.

*Orites excelsa* R. Br. — SMITH (I) fand in einer alten Stammscheibe von 3 Fuß Durchmesser eine reichliche Ablagerung von basisch-kornsteinsäurem Aluminium,  $Al_2(C_2H_3O_4)_3 \cdot Al_2O_3$ . Die Holzasche enthielt gegen 80% an Aluminium. In anderen Exemplaren dieses Baumes konnte er in der Asche gleichfalls viel Aluminium (38–43%) nachweisen, hingegen nicht in den untersuchten verwandten *Grevillea*-Arten.

Ob diese auffallenden Anhäufungen von Aluminium eine Bedeutung für die betreffenden Pflanzen haben, läßt sich vorläufig nicht sagen, immerhin wird es gut sein, der Sache Beachtung zu schenken, zumal FLURI (I) und SZÜCS (I) höchst auffallende Einwirkungen verschiedener Aluminiumsalze auf die Pflanzenzelle beobachtet haben und KRATZMANN (II) gezeigt hat, daß der Schimmelpilz *Aspergillus niger* im Wachstum und in der Fruktifikation und der Vorkeim von *Equisetum arvense* im Wachstum durch geringe Aluminiummengen gefördert werden, während das Wachstum der höheren Pflanze durch Aluminiumsalze, in Konzentrationen von 0,005% angefangen, gehemmt wird.

FLURI fand, daß die Aluminiumionen die Fähigkeit haben, Zellen zu entstärken und die Plasmolysierbarkeit der Zellen aufzuheben. Und SZÜCS zeigte, daß die letztere Erscheinung auf einer Erstarrung des Plasmas beruht, die durch die Aluminiumionen hervorgerufen wird.

### 3. Mangan.

Durch die Untersuchungen von PICHARD (I) und GÖSSL (I) wurde die fast allgemeine Verbreitung des Mangans in den Pflanzen dargetan. Der letztere hat in den von ihm untersuchten sehr zahlreichen Kryptogamen und Phanerogamen überall Mangan mikrochemisch nachweisen können mit Ausnahme von *Cuscuta epilinum*. Dies ist eine bemerkenswerte Tatsache, da Mangan für die Pflanzen, soweit unsere Erfahrungen reichen, nicht notwendig ist. Allerdings kann es als Reizmittel das Wachstum begünstigen. Die Menge des Mangans kann in der Pflanze sehr groß sein. So bei den Koniferen. Weißtannenholz hat 28% und

Tannenrinde sogar 40% Manganoxydoxydul in der Asche. Sumpf- und Wasserpflanzen speichern Mn im allgemeinen in größerer Menge als Landpflanzen, auch enthält die Rinde zumeist mehr davon als das Holz.

Einige Wasserpflanzen, *Elodea*, *Vallisneria* und andere speichern, wie MOLISCH (IV) fand, auffallenderweise bei Kultur in Manganlösungen bei Gegenwart von Licht in ihrer Oberhaut Mangan, oft in solcher Menge, daß die betreffenden Epidermiswände tiefbraun erscheinen. Eine intensive Mangananhäufung zeigen nach MOLISCH (I, 71; III, 46) die Eisenbakterien, wenn man ihnen anstatt Eisen Manganverbindungen gibt. Die Gallertscheiden dieser Bakterien werden infolge Manganeinlagerung viel dicker als bei Eisenspeicherung.

PEKLO (I) fand auf einer *Cladophora*-art in großen Mengen eine Cocconeis, die mit einer  $1,3\mu$  bis  $2,6\mu$  dicken oder noch dickeren braunschwarzen Hülle bedeckt war, die viel Mangan enthielt.

#### Nachweis.

1. Die Soda-Salpeterschmelze. Eine kleine Menge der Asche wird ungefähr mit gleichen Teilen Soda und Salpeter am Platinblech oder in der Platinöse geschmolzen. Hierdurch wird das Mn in Manganat übergeführt und gibt sich durch Grünfärbung zu erkennen.

2. Fällung als Ammoniummanganophosphat,  $MnNH_4PO_4 \cdot 6H_2O$ .

Die Reaktion wird nach BEHRENS (I, 46) in der Weise ausgeführt, daß man das Natriumphosphat in Ammoniak löst und einen Tropfen dieser Lösung in den erwärmten und mit Ammoniumchlorid versetzten Tropfen der sauren Manganlösung bringt.

Nach GÖSSL (I) wird die Fällung zweckmäßig so ausgeführt, daß man einen Tropfen der Manganlösung mit einem Tropfen  $NaHNH_4PO_4 \cdot 4H_2O$  zusammenbringt und das Ganze in  $NH_3$ -Dampf einige Zeit stehen läßt. Unter der Decke eines brannen Niederschlags bilden sich dann die hemimorphen Kristalle von  $MnNH_4PO_4 \cdot 6H_2O$ . Sie erreichen eine Länge bis  $40\mu$  und gleichen vollkommen denen des Ammoniummagnesiumphosphats und den analog zusammengesetzten der Doppelverbindungen von Fe, Co, Ni, unterscheiden sich aber von diesen dadurch, daß sie beim Auswaschen haften bleiben. Werden diese Kristalle hierauf mit Kalilauge und Wasserstoffsuperoxyd behandelt, so färbten sie sich unter Beibehaltung ihrer Form tiefbraun (BEHRENS I, 47). Die Empfindlichkeitsgrenze liegt nach BEHRENS bei  $0,3\mu g$  und nach GÖSSL bei  $0,018\mu g$  Mn. Der letztere erhielt die optimale Leistung des Reagens bei der Verwendung von Tropfen einer 0,05%  $MnSO_4$ - und 0,5%  $NaHNH_4PO_4 \cdot 4H_2O$ -Lösung.

GÖSSL fand auch eine Methode, die es ermöglicht, mikrochemisch Mn bei gleichzeitiger Anwesenheit von Co, Ni, Fe und Mg nachzuweisen.

Behandelt man nämlich die Ammoniummanganophosphat-Kristalle mit  $\frac{1}{10}$  n- $KMnO_4$ , so färben sie sich binnen wenigen Minuten tiefbraun, während die entsprechenden Doppelverbindungen der genannten Elemente, von denen übrigens Co und Ni für den Botaniker nicht in Betracht kommen, farblos bleiben. Die Färbung wird um so deutlicher, wenn nach erfolgter Bräunung der Reagenztropfen mit Wasser gewaschen wird.

3. Die Reaktionen. Mangan als Oxalat oder als Superoxyd  $\text{MnO}_2$  zu fällen, empfehlen sich für botanische Zwecke nicht. — Mit der Reaktion 1 kann das Mangan in Aschen, mit 2 in diesen, in frischen und trockenen Gewächsen, ja selbst in Schnitten nachgewiesen werden. Die Schnitte werden behufs Lösung schwerer löslicher Mn-Verbindungen in 0,1%  $\text{HCl}$  gelegt und nach Ausführung der Reaktion in einer feuchten Kammer mit  $\text{NH}_3$ -Dampf stehen gelassen. Bei Gegenwart von Mn zeigen sich den nächsten Tag die erwähnten Kristalle, die mit  $\text{KMnO}_4$  behandelt, eine tiefbraune Farbe annehmen. Für Aschenuntersuchungen, z. B. der Blätter, verwende man Stücke von 1  $\text{cm}^2$ .

#### 4. Calcium.

##### Nachweis.

1. Mit Schwefelsäure wird Ca als Sulfat,  $\text{CaSO}_4 \cdot \frac{1}{2} \text{H}_2\text{O}$  gefällt. Fügt man zu etwas Pflanzenasche ein kleines Tröpfchen von 1–3 proz. Schwefelsäure und läßt man verdampfen, so entstehen augenblicklich oder nach kurzer Zeit am Rande Gipskristalle. Bei etwas reichlichen Kalkmengen entstehen Nadelbüschel, bei geringen Mengen auch wohl ausgebildete Kristalle des monosymmetrischen Systems von verschiedenen Formen.

Vorherrschend erscheinen tafelförmige Kristalle, deren stumpfer Winkel nach HAUSHOFFER (I, 33)  $127^\circ 31'$  mißt. Ferner Zwillingungsverwachsungen, deren einspringender Winkel  $104^\circ$  (resp.  $76^\circ$ ) oder  $130^\circ$  beträgt und andere Formen.

Diese Reaktion gibt auch mit Schnitten gute Resultate, wenn man den Schnitt mit einem Tröpfchen 2 proz. Schwefelsäure bedeckt und das Tröpfchen dann ohne Deckglas verdunsten läßt. Die Gipskristalle erscheinen zuerst am Rande des Tropfens und schließlich auf dem Gewebe, oft in sehr großer Zahl. Die Schwefelsäurereaktion ist sehr empfindlich und gestattet, den Kalk in einer kleinen Spur Asche, in einem Tröpfchen Leitungswasser, in kleinen Schnitten des Stengelparenchyms, ja sogar in einzelnen Zellen nachzuweisen.

Ist Kalk in nicht zu geringen Mengen vorhanden, so erhält man auch mit reiner Schwefelsäure nach ganz kurzer Zeit Gipskristalle, meist Nadeln oder Nadelbüschel, und diese Reaktion kann, wie später noch in einem besonderen Beispiel gezeigt werden soll, auch beim lokalen Nachweis gute Dienste leisten.

2. Mit oxalsaurem Ammon. Dasselbe bewirkt in Kalklösungen einen kristallinen Niederschlag von Kalkoxalat  $\text{CaC}_2\text{O}_4 \cdot \frac{1}{2} \text{H}_2\text{O}$ . Für den Nachweis des Calciums im Zellsaft eignet sich eine 5 proz. Lösung von Ammoniumoxalat in einer 5–10 proz. Essigsäure. Bei Behandlung von kalkhaltigen Gewebeschnitten mit diesem Reagens erhält man entweder sofort oder nach ganz kurzer Zeit einen Niederschlag, der aus kristallinen Körnchen oder kleinen quadratischen Pyramiden oder Rauten besteht.

Gute Resultate, ja oft noch bessere erhält man auch, wenn man die Schnitte mit verdünnter (etwa 5%) Oxalsäure, der etwas Essigsäure zugesetzt wurde, behandelt. Es kommt hier oft zu einer guten Ausbildung der Kristalle.

3. Ammoniumkarbonat fällt aus Kalklösungen Kalkkarbonat. Diese Probe wurde von SCHIMPER (I, 211) für kalkreichere Gewebe empfohlen; sie steht aber an Empfindlichkeit den beiden Reaktionen 1 und 2 so nach, daß ich davon absehen möchte.

4. Mit Kalilauge oder einem Gemisch von Kalilauge und kohlensaurem Kali. Wenn man Gewebeschnitte der Pflanze, die gelöste oder ungelöste Kalkverbindungen enthalten, mit einem Tropfen halbgesättigter, d. h. 100proz. wässriger Kalilauge behandelt, so treten nach einiger Zeit sehr charakteristische, hexagonale Plättchen oder Scheiben auf, die später in gefüllten Blüten sehr ähnliche Kristallaggregate übergehen können (Fig. 11). Diese Kristalle bestehen aus einem Doppelsalz von der Zusammensetzung  $(2 \text{ Ca CO}_3 + 3 \text{ K}_2\text{CO}_3) + 6 \text{ H}_2\text{O}$ .

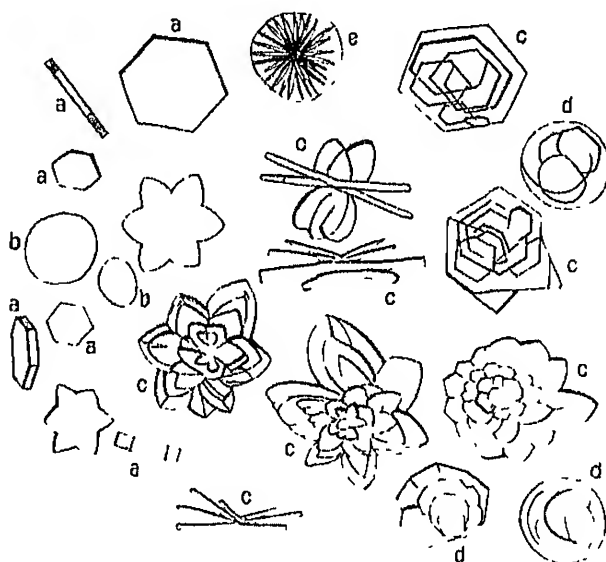


Fig. 11.

Kristalle des Kali-Kalk-Doppelsalzes  $(2 \text{ CaCO}_3 + 3 \text{ K}_2\text{CO}_3 + 6 \text{ H}_2\text{O})$ , wie man sie erhält, wenn man ein kalkführendes Gewebe mit Kalilauge oder mit einem Gemisch von Kalilauge und kohlensaurem Kali behandelt. *a* hexagonale Plättchen, *b* kreisrunde Scheibchen, *c* Tüfelchen verwachsen mit Scheibchen, *d* verwachsene oder spiralig angeordnete Plättchen, *e* strahlig angeordnete Scheibchen oder Plättchen. Vergr. 350

Noch rascher und sicherer erhält man diese Kristalle, wofern man anstatt der angeführten Kalilauge ein Gemisch von dieser halbgesättigten Lösung mit einer gesättigten von kohlensaurem Kali verwendet.

Diese Reaktion tritt nicht nur mit kohlensaurem Kalk, sondern auch mit verschiedenen anderen Kalksalzen ein: mit schwefelsaurem, salpetersaurem, phosphorsaurem, oxalsaurem, äpfelsaurem, weinsaurem, essigsäurem, buttersäurem usw. Die Reaktion ist sehr empfindlich. Ein einziges Tröpfchen der Wiener Hochquellwasserleitung gibt sehr deutlich die Probe. In einer einzigen Zelle (Brennhaar von *Urtica urens*) können oft hundert und mehr der erwähnten Sechsecke des Doppelsalzes Kalk-Kali-Karbonat entstehen (MOLISCH (XIX)).



5. Mit Soda. Diese Probe (MOLISCH XX) besteht in der Fällung des Kalkes als Kalkkarbonat oder als Kalk-Natronkarbonat (Gaylussit) mit einer konzentrierten wässrigen Lösung von Soda. MOLISCH verwendet eine etwa 10proz. bis nahezu gesättigte Lösung von wasserfreiem Natriumkarbonat. Je größer die Konzentration der Lösung, desto rascher und reichlicher entstehen die Kristalle. Wird ein Querschnitt durch den Blattstiel, z. B. von *Pelargonium zonale* oder *Primula obconica*, mit der erwähnten Sodalösung behandelt und mit einem Deckglas bedeckt, so entstehen im Laufe einer halben Stunde oder später in zahl-

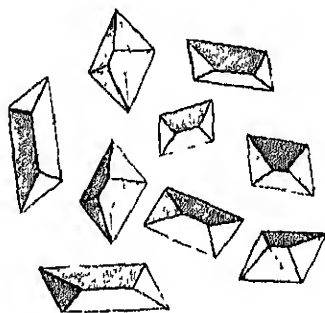


Fig. 12.  
Gaylussitkristalle, aus dem Blattstiel-Parenchym von *Primula obconica*, erhalten durch Soda.  
Vergr. 250.

reichen Parenchymzellen viele farblose, stark lichtbrechende Kristalle, die sich, wenn das Präparat 24 Stunden in der feuchten Kammer liegen bleibt, vermehren und bedeutend vergrößern. Die Abbildung 12 zeigt die dabei entstehenden Gaylussit-Kristalle.

Neben diesen bilden sich mit Soda in sehr kalkreichen Geweben, z. B. denen der Crassulaceen, auch Sphärite von kohlensaurem Kalk.

Zur Einführung dieser sehr empfindlichen Kalkprobe seien Pflanzen mit saftreichem Parenchym empfohlen: Crassulaceen, Cacteen, Begonia, *Primula n. a.*

6. Mit Tartrat. Zum Nachweis gelöster Kalksalze verwendet KISSER (1) eine 10proz. wässrige Lösung von Seignettesalz oder ein entsprechend anderes neutrales Tartrat. Der frische Schnitt wird mit einem Tropfen des Reagens versehen, jedoch ohne Deckglas belassen. Bei größerem Gehalt erscheinen schon nach wenigen Sekunden, bei geringerem nach wenigen Minuten Kristalle von Calciumtartrat (Fig. 42).

#### Vorkommen.

Das Calcium ist für die meisten Pflanzen ein notwendiges Nahrungselement. Nur niedere Pilze und Algen können, wie zuerst MOLISCH (VII) und später LOEW (I) und BENECKE (I) gezeigt haben, ohne Kalk wachsen und sich vermehren. Darans kann man schon auf die fast allgemeine Verbreitung dieses Elementes im Pflanzenreiche schließen. Kalk ist zweifellos in den meisten Zellen vorhanden. Er ist gewöhnlich gelöst, häufig auch in fester Form abgeschieden, und zwar in der Regel als Oxalat, dann als Karbonat, Phosphat, Tartrat und in seltenen Fällen als Sulfat (KOH. I).

#### a) Kalkoxalat.

Die meisten Kristalle, die sich in Pflanzenzellen vorfinden, gehören diesem Kalksalz an. Abgesehen von den Diatomeen, den Cyanophyceen und Equisetaceen wird es wenige Gruppen geben, die nicht Kalkoxalat aufweisen.

Seine Kristallgestalt ist sehr verschieden. Sie gehören entweder dem tetragonalen oder monoklinen System an, je nachdem sie 6 oder 2 Äquivalente Kristallwasser enthalten. Die aus der Quillaja-

Rinde rein gewonnenen monoklinen Kalkoxalatkrystalle haben aber nach NEROLITZKY (III) nur ein Molekül Kristallwasser. Die gewöhnlichsten Formen sind aus der beistehenden Fig. 13 zu ersehen. I tetragonale Pyramide, II und III Kombination von Pyramide und Prisma, IV monoklines Rhomboeder, V rhombische Tafel, VI wahrscheinlich eine Kombination von positiver und negativer Hemipyramide mit der Basis, VII Kombination der rhombischen Tafel mit dem Klinopinakoid, VIII eine Kombination des Rhomboeders mit einer Hemipyramide, IX Zwillingskristall, dessen einspringender Winkel  $\alpha$  nach HOLZNER (I)  $141^{\circ} 3'$  beträgt. — Dazu gesellen sich noch verschiedene andere Formen: Raphiden, d. h. nadelförmige, an beiden Enden zugespitzte Kristalle, die einzeln oder zu Bündeln vereint die Zellen erfüllen, Drusen, Sphärite und Kristallsand (Fig. 14).

Oxalsaurer Kalk ist in Wasser und Essigsäure unlöslich, hingegen löslich in Salzsäure, Salpetersäure und Schwefelsäure ohne Aufbrausen. Bei der Behandlung mit Schwefelsäure wird das Kalkoxalat in Gips umgewandelt, der in Form von Nadeln oft schon an dem verschwindenden Kristall sich ansetzt. Konzentrierte Schwefelsäure oder zur Hälfte verdünnte wandelt den Oxalatkrystall in der Wärme in ganz kurzer Zeit in körnigen oder nadelförmigen Gips um, so daß häufig an Stelle des Kalkoxalats schwefelsaurer Kalk zu liegen kommt.

Beim Veraschen verwandelt sich Kalkoxalat, ohne seine Form wesentlich zu ändern, in kohlensaurer Kalk und bei längerem Glühen in Calciumoxyd. Die Asche vieler Pflanzenteile (Quillaja-Rinde) besteht zum nicht geringen Teile aus solchen kohlensaurer Kalkkristallen, die vor dem Glühen aus Kalkoxalat bestanden (Fig. 15).

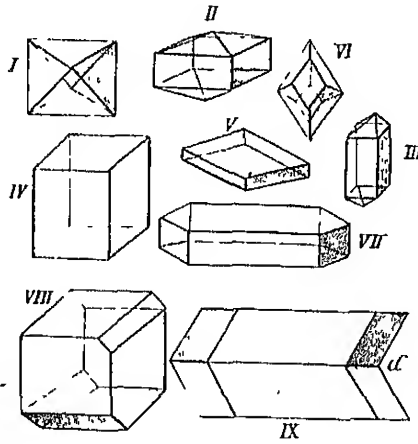


Fig. 13

Kristalle von oxalsaurer Kalk  
Siehe Text. Nach A. ZIMMERMANN (I).

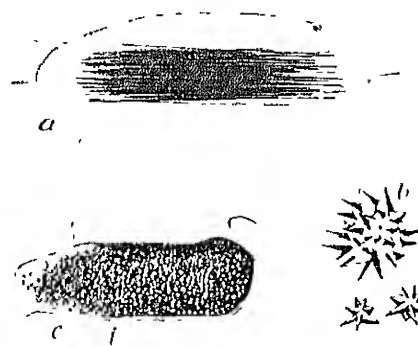


Fig. 14

Kristalle von Kalzinnoxalat.  
Vergl. 325

- a) Raphidenbündel aus dem Fruchtknoten von *Galanthus nivalis*. Das Bündel von Schleim und dieser von Plasma, in dem der Zellkern liegt, umgeben
- b) Drusen von *Opuntia grandis*.
- c) Kristallsandzelle aus der Rinde von *Sambucus nigra* mit angrenzender Bastzelle.

Nicht selten, z. B. beim Tabakblatt und vielen Gramineen, sind die Kristalle so klein, daß sie bei mikroskopischer Betrachtung leicht übersehen werden können. In diesem Falle leistet die Betrachtung im polarisierten Lichte ausgezeichnete Dienste. Die früher fast unsichtbaren Kriställchen leuchten zwischen den gekreuzten Nicols dann deutlich auf und werden hierdurch leicht kenntlich.

Will man einen Überblick über die Verteilung der Kalkoxalat-kristalle in einem ganzen Organe oder wenigstens in größeren Partien eines Organes, eines Stengels oder Blattes haben, so empfiehlt es sich, als Aufhellungsmittel Chloralhydrat (s. p. 19) zu verwenden. Viele, namentlich dünne Blätter werden dabei so durchsichtig, daß die Kristallzellen ungemein deutlich hervortreten. Kristallisiertes Kalkoxalat tritt gewöhnlich im Zellinhalt auf, seltener in der Membran, so bei *Dammara robusta* (Blattparenchym), *Thuja occidentalis* (Phloem), *Taxus baccata*, *Dracaena reflexa* (Epidermis), *Nymphaea* (Grundgewobshaare) und anderen (H. C. MÜLLER I).



Fig. 15.

Kristalle in der Asche der Rinde von *Quillaja Saponaria* Mol. Die Kristalle, ursprünglich aus Kalkoxalat bestehend, werden beim Veraschen in Kalkkarbonat umgewandelt. Dazwischen Kohletheilen u. amorpho Asche. Vergr. 180.

#### b) Kalkkarbonat

ist ziemlich verbreitet im Pflanzenreiche, wenn auch nicht so häufig wie Kalkoxalat. Es kommt gelöst und in fester Form vor, und zwar in letzterem Falle 1. der Membran aufgelagert, 2. der Membran eingelagert und 3. als Zellinhaltsbestandteil.

Aufgelagert findet man es bei *Saxifraga*-Arten, *Plumbagineen* und einigen Farnen, an deren Blättern dieses Salz durch besondere Drüsen ausgeschieden wird; bei gewissen Wüstenpflanzen, *Tamarix*-Arten, bei *Statice*, bei vielen niederen (Kalkalgen) und höheren Wasserpflanzen, in den Blatthöhlungen von *Lathraea squamaria* usw.

Eingelagert in der Membran kommt es vor bei den Cystolithen der Moraceen, Acanthaceen, Cucurbitaceen, Cannabineen, Combreteaceen, in den Perikarprien von *Celtis* und *Lithospermum*, in zahlreichen Haaren der Cucurbitaceen, Cruciferen, Boragineen, wo das Kalksalz übrigens in den Haaren auch als Zellinhalt auftreten kann.

Alle untersuchten Cystolithen haben die Fähigkeit, salpetersaures und schwefelsaures Silber so stark zu reduzieren, daß sie sich nach kurzer Zeit schwarz färbten. Auf diese Weise kann die Verteilung der Cystolithen im Blatte schon bei schwacher Vergrößerung sehr deutlich sichtbar gemacht werden. Die Ursache der Silberabscheidung ist der die Cystolithen inkrustierende kohlensaure Kalk. Die Reduktion der Silbersalze durch Kalkkarbonat kann dazu herangezogen werden, um den mikrochemischen Nachweis des kohlensauren Kalkes in der Pflanze zu stützen. Ob hier wirklich eine Silberreduktion vorliegt, bleibt vorläufig noch zweifelhaft, denn es könnte das Kalkkarbonat das Silberoxyd auch ausschleiden oder die reduzierende Wirkung organischer Stoffe wecken. Die Cystolithen verhalten sich auch anderen Metallsalzen gegenüber sehr auffallend. So färben sie sich in Goldchlorid rot bis blauviolett, in Eisenvitriol rostrot, in Nickelsulfat blaßgrün und in Kobaltchlorid

und Kobaltsulfat lila oder rosarot. Verursacht werden diese Färbungen durch das Niederschlagen der entsprechenden Hydroxyde infolge des alkalisch reagierenden kohlensauren Kalkes des Cystolithen (MOLISCH XXI).

Als fester Inhaltskörper tritt es auf im Plasmodium und Fruchtkörper vieler Myxomyceten, in *Pseudomonas hyalina*, *Achromatium oxaliferum* neben Schwefelkugeln (BERSA I) und in den Perikarpnien von *Cerinth minor* (KOTIL I). Bei einer nicht geringen Zahl von dikotylen Holzgewächsen (*Ulmus campestris*, *Celtis australis*, *Sorbus torminalis*, *Pirus microcarpus*, *Fagus silvatica* usw.) wird nach MOLISCH (VIII) im Stamm kohlensaurer Kalk abgelagert, und zwar in der Regel im Kernholze oder an solchen Orten, wo die Zellen ähnliche chemische und physikalische Eigenschaften erkennen lassen, wie sie dem Kernholze zukommen: in dem vom Kernholz ungeschlossenen Mark, im toten, verfärbten Wundholz und in toten, verfärbten Astknoten. Der  $\text{CO}_2\text{Ca}$  wird im Holze hauptsächlich in den Gefäßen abgesetzt, häufig findet man auch einzelne der benachbarten Holzelemente mit dem genannten Kalksalze erfüllt. Die Anfüllung der Gefäße und Zellen ist meist eine so vollständige, daß man in der Asche (Fig. 16) gewöhnlich solide Abgüsse bemerkt, die nicht nur die Form des Lumens, sondern auf ihrer Oberfläche auch einen genauen Abdruck von dem Relief der Wand erkennen lassen. Der kohlensaure Kalk ist kristallinisch und weist mitunter eine konzentrische Schichtung (*Anona laevigata*) und eine strahlige Struktur auf (*Acer*).

Der Nachweis der Kohlensäure in den Karbonaten wird in der auf p. 72 auseinandergesetzten Weise geführt, namentlich durch Austreiben der Kohlensäure mit Salzsäure oder Essigsäure. Die Kohlensäure entweicht unter dem Deckglas in Form von Gasblasen. Die Cystolithen eignen sich, da sie, abgesehen von den durch MOLISCH (IX) im Marke von *Goldfussia*-Arten und *Ruellia ochroleuca* bekannt gewordenen kalkfreien Cystolithen, sehr stark mit kohlensaurem Kalk imprägniert sind, besonders gut zur Demonstration dieser Reaktion.

Bezüglich des Nachweises von Kalk bediene man sich der auf p. 48 und den ffg. angeführten Reaktionen.

Auf eine Eigentümlichkeit des Kalkkarbonats unter der Einwirkung von Oxalsäure, die ich beobachtet habe, sei hier aufmerksam gemacht. Wird festes Kalkkarbonat, z. B. ein Cystolith mit 5proz. Oxalsäure behandelt, so entstehen auf der Oberfläche verschieden gestaltete Protuberanzen (vgl. Fig. auf p. 73) in Form von

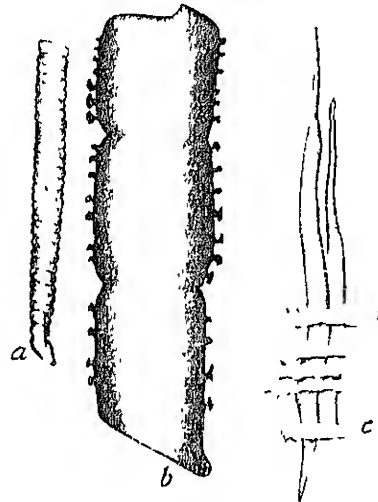


Fig. 16.

Ausfüllungen von Gefäßen und Zellen mit kohlensaurem Kalk. Aschenpräparat

- a) und b) aus dem Kernholz von *Ulmus campestris*
- a) Solider Kalkabguß eines Spinalgefäßes, b) eines Tüpfelgefäßes
- c) Solider Kalkabguß von Labrifasern und Markstrahlzellen Aus der Asche pathologischen Kernholzes von *Acer rubrum* Vergr. 100

Kugeln, Säcken oder anderen Formen, die einige Zeit wachsen und lebhaft an die Bildung von TRAUBESCHEN Zellen erinnern. Es handelt sich wahrscheinlich um Niederschlagsmembranen von oxalsaurem Kalk, die durch Intussuszeption kurze Zeit wachsen; Cystolithen, Konkretionen von kohlensaurem Kalk auf Chara und anderen Wasserpflanzen und Kreide zeigen diese Eigentümlichkeit, die zur Diagnose von  $\text{CO}_2$  mit Vorteil herangezogen werden kann.

### c) Kalksulfat.

Sulfate kommen wahrscheinlich sehr häufig gelöst in den Zellen vor, können aber mit den gewöhnlichen Reaktionen (s. p. 48—50) nicht sicher nachgewiesen werden. In fester Form findet sich Sulfat sehr selten vor. Ein bekanntes Beispiel stellen viele

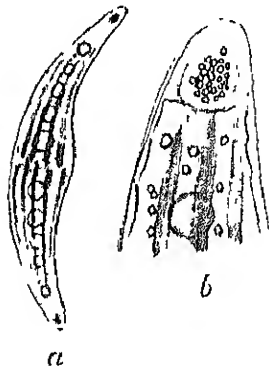


Fig. 17.

*Glosterium moniliforme*.

- a) Ganze Zelle mit den polaren Vakuolen. Darin Gipskriställchen.
- b) Das Ende der Zelle mit der Vakuole und den Gipskriställchen, stark vergrößert. Vergr. 700.

Desmidiaceen dar. Im Zellinhalt, namentlich in den „Endbläschen“ von *Glosterium* (s. Fig. 17) und anderen Desmidiaceen kommen ein bis viele winzige Kriställchen vor, die sich in winnender Bewegung befinden. Die letzteren sind bestimmt abgegrenzte, mit Zellsaft erfüllte Räume, aber keine Vakuolen. Wie schon DE BARY wahrscheinlich gemacht und A. FISCHER (II) bewiesen hat, bestehen diese Kriställchen aus Gips. Sie sind nach FISCHER (II) in Schwefelsäure und Essigsäure gänzlich unlöslich, in Salzsäure und Salpetersäure in der Kälte sehr langsam, in der Hitze aber sofort löslich und werden in der Glühhitze weder verändert noch zerstört. Mit Chlorbaryum behandelt, verlieren sie ihre Löslichkeit in Salz- und Salpetersäure. Die Kriställchen sind doppelbrechend. Wegen ihrer Kleinheit läßt sich ihre Gestalt nicht leicht beurteilen. Sie erscheinen, wenn sie überhaupt eine Form deutlicher verraten, in Gestalt kleiner Prismen oder Täfelchen, wie man sie auch

bei Gipskriställchen findet. Abgesehen von *Glosterium*, kommen Gipskriställchen auch bei anderen, aber nicht bei allen Desmidiaceen vor. FISCHER (II) hat sie bei *Cosmarium*, *Micrasterias*, *Euastrum*, *Plenrotacium*, *Penium* und *Tetramorus* nachgewiesen. Manche führen in gesunden Zellen immer Gipskristalle, manche nur zuweilen und manche scheinen Gips nur gelöst zu enthalten. Jedenfalls scheint die Ausscheidung von festem Gips eine physiologische Eigentümlichkeit der Desmidiaceen darzustellen, über deren Bedeutung wir noch ganz im Unklaren sind. Es ist zu verwundern, daß die Anhänger der Statolithentheorie sich dieser Gebilde nicht mehr angenommen haben.

**Tamariaceae.** Nach BRUNSWIK (I) bestehen die besonders in den Blättern und jungen Stengeln, ferner in den Blüten, Samenanlagen und Samen der Tamariaceen vorkommenden Kristalle nicht, wie man bisher angenommen hat, aus Kalkoxalat, sondern, wie ich mich gleichfalls überzeugt habe, aus Gips. Die Kristalle lösen sich schon in kaltem

Wasser, verdünntem Glycerin, sind unlöslich in Eisessig und werden durch Glühen nicht verändert.

Es ist eine Eigentümlichkeit wachsender Gipskristalle, bei Zusatz von Eosin, Bismarckbraun und Haematoxylin zur Mutterlauge sich in charakteristischer Weise zu färben. Der Farbstoff wird zwar molekular aufgenommen, erstreckt sich jedoch nicht durch die gesamte Masse der Kristalle, sondern es färben sich nur die zu } 101 { — P  $\infty$  } gehörigen Sektoren so, daß die Kristalle durch die Färbung die sog. Sanduhrstruktur annehmen (VATER I). Dasselbe zeigen nach BRUNSWIK die Einzelkristalle, die durch Umkristallisieren der ursprünglich in den Pflanzen vorhandenen Gipsdrusen gewonnen wurden. Die Gipskristalle finden sich im Mesophyll, besonders längs der Blattnerven entlang der Leitbündel, im Mark und in der Rinde (Fig. 18). Das Vorkommen der Kristalle erstreckt sich in stärkerem oder geringerem Maße auf sämtliche untersuchten Arten der vier Gattungen *Tamarix*, *Reaumuria*, *Myricaria* und *Hololachne*. Hingegen enthalten die Arten von *Fouquieria* keine Gips-, sondern Kalkoxalatkristalle. Die systematische Stellung dieser Gattung war schon lange zweifelhaft, bis man sie von den Tamaricaceen abgetrennt und als Repräsentanten einer eigenen Familie (jetzt *Fouquieriaceae*) aufgestellt hat. Die Mikrochemie hat diesem Vorgang nun eine weitere Stütze gegeben.

Gipskristalle wurden von RADLKOFER bei Capparideen aufgefunden (SOLEREDER I 82).

Von verschiedenen Beobachtern wurden noch bei anderen Pflanzen feste Gipsablagerungen in Zellen angegeben, aber diese Angaben konnten nicht immer einer strengeren Kritik standhalten. So finden sich in den Parenchymzellen der Blattstiele der

Marattiaceen kleine, tafelförmige Kristalle, die nach HANSEN (I) aus Gips mit einer Beimengung von Magnesiumsulfat bestehen, die aber nach MONTEVERDE (II) nichts anderes als Kalkoxalat darstellen. Hingegen soll sich nach dem letzteren Autor im Zellsaft dieser Pflanzen reichlich Gips vorfinden, der nach monatelangem Liegen in Alkohol sich in den Blättern von *Angiopteris longifolia* und *Marattia cinctaefolia* in Form großer Kugeln ohne sichtbare Struktur ausscheidet. Sie finden sich am reichlichsten in den Epidermiszellen der spaltöffnungsreichen Blattunterseite. Durch Zersetzung dieser Gipskugeln sollen sich andere bilden, die aus Kaliumsulfat und einem Calciumsalz bestehen. — Unter der Einwirkung von Alkohol bilden sich lange prismatische Kristalle von Gips in den Atemhöhlen der Spaltöffnungen bei *Angiopteris*.

*Panicum crus galli*. MONTEVERDE (I) fand auch bei dieser Pflanze in der Epidermis getrockneter Blätter Gips-sphäro-kristalle.

*Hebeclinium macrophyllum*. HANSEN (I, 118) erhielt nach Behandlung mit Alkohol reichlich Sphäro-kristalle von Calciumsulfat im jungen Holz.

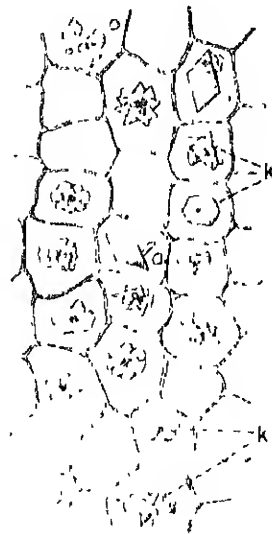


Fig. 18.  
*Tamarix tetrandra*,  
Gipskristalle im Mark.  
Vergl. 180.

*Saccharum officinarum*. In den lebenden Zellen des Zuckerrohres finden sich kleine, leicht übersichtbare Kriställchen von der Form rhombischer Täfelchen, die HANSEN (I, 117) für Gips, MONTEVERDE (I) aber für Kalkoxalat hält.

Wegen der auffallenden Widersprüche über die chemische Natur der fraglichen Gipskristalle wäre eine erneute mikrochemische Prüfung sehr erwünscht.

#### d) Kalkphosphat.

Obwohl Kalk und Phosphorsäure in der Pflanze zweifellos sehr häufig nebeneinander vorkommen, findet man phosphorsauren Kalk, abgesehen von den Globoiden in den Aleuronkörnern der Samen, selten in der lebenden Zelle fest ausgeschieden, wohl aber gewöhnlich gelöst vor. Nach den Untersuchungen verschiedener Forscher, HANSEN (I), LEITGE (I), SCHAAFSCHMIDT (I), KOLDERUP-ROSENVINGE (I), RE (I) und anderen kann man aber bei gewissen Pflanzen phosphorsauren Kalk in Form von Sphäriten zur Abscheidung bringen, wenn man die betreffenden Pflanzenteile auf längere Zeit in Alkohol einlegt. Unter diesen Umständen treten Kalkphosphatsphärite auf in den Knollen von *Dahlia variabilis*, in den kaktusähnlichen Arten der Gattung *Euphorbia*, in den oberirdischen Organen von *Galtonia* (*Hyacinthus*) *candicans*, *Mesembryanthemum*-, *Stapelia*- und *Ceropegia*-Arten, in den Blattstielen von *Angiopteris evecta* und *Marattia cicutifolia*, in *Agave mexicana* und anderen.

Die Beobachtungen von HANSEN wurden von BELZUNG (II) einer kritischen Revision unterzogen. Er kommt hierbei zu dem gut begründeten Resultat, daß Sphärite von reinem Calciumphosphat überhaupt bei den kaktiformen Euphorbien nicht vorkommen, sondern nur von Kalkmalat und Kalkmalophosphat.

Die anfangs amorphen, später radial gestreiften Sphärite repräsentieren nach BELZUNG ein in Wasser lösliches Kalkmalophosphat, die prismatischen, gewöhnlich zu schönen Sphäriten angeordneten Kristalle bestehen aus reinem oder fast reinem Kalkmalat.

In einzelnen Fällen hat man auch bereits in der lebenden Zelle feste Calciumphosphatausscheidungen aufgefunden. So HÄNLEIN und COUNCLER (I) in den Blättern von Wasserkulturexemplaren von *Soja hispida* und *Robinia Pseudacacia* und ZIMMERMANN (I, 311) im Blatte und Stengel einer unbestimmten *Cyperus*-Art.

Eigenschaften der Kalkphosphatsphärite. Sie sind farblos oder gelblich, lösen sich langsam in Wasser, Ammoniak, leicht in Salz-, Salpeter- und Schwefelsäure, in letzterer (2%) unter Bildung von Gipsnadeln. Beim Veraschen schwärzen sie sich zunächst wegen der Verkohlungen der beigemengten organischen Substanzen und werden schließlich ganz weiß.

Mit 2proz. Schwefelsäure kann man den Kalk in den Sphäriten nachweisen. Auch Phosphorsäure läßt sich mit Ammoniummolybdat in Schnitten leicht konstatieren, aber es bleibt immer, da die Reaktion keine streng lokale ist, die Frage offen, ob die Phosphorsäure wirklich aus den Sphäriten stammt. Daher läßt sich auch die Vermutung nicht abweisen, daß vielleicht manche Sphärite, die man heute für Kalkphosphatsphärite hält, aus Kalkmalat oder einem anderen Kalksalz bestehen.

Zwischen gekreuzten Nicols zeigen sie ein dunkles Kreuz mit analoger Orientierung der optischen Achsen wie die Inulinsphärite und Stärkekörner. RODIER (I) fand im Stengel von *Senecio vulgaris* L. u. *S. Cineraria* DC. und in der Wurzel einiger Varietäten von *Brassica Rapa* (Alkoholmaterial) Sphärite, die viel Ähnlichkeit mit den Kalkphosphatsphäriten der kaktusähnlichen Euphorbien haben und sicher Kalk enthalten. Ob dieser an Phosphorsäure gebunden ist, vermag der genannte Autor nicht zu sagen.

**Teakholz.** Nach THOMS (I) finden sich in den Gefäßen des Kernholzes vom Teakholz (*Tectona grandis* L.) Ausscheidungen von Calciumphosphat vor und diese sollen den hohen Gehalt (20,6 %) der Teakholzasche an Phosphorsäure verursachen. KOHL (I, p. 156) bestreitet, daß die in Holz und Rinde vorkommenden Kristalle phosphorsaurer Kalk seien und hält sie für Kalkoxalat. Ich selbst habe von einer 5jährigen Stammscheibe Mark, Holz und Rinde untersucht und nur in der Rinde reichlich Kalkoxalat gefunden. Allein mir scheint, daß es sich bei den von KOHL und THOMS beobachteten Ablagerungen um zwei verschiedene Dinge handelt. KOHL scheint die von THOMS studierten weißen Ablagerungen, die vielleicht nur in altem Holze und unter besonderen Umständen auftreten, wahrscheinlich gar nicht vor sich gehabt zu haben. Die Sache bedarf nochmaliger Untersuchung, zumal man mir gelegentlich meines Aufenthaltes auf Java auf meine Anfrage hin versicherte, daß mineralische Ablagerungen in größerer Menge im Teakholze tatsächlich vorkommen sollen.

**Globoide.** In diesen steckt gleichfalls phosphorsaurer Kalk. In den geglähten Globoiden kann leicht Kalk und Phosphorsäure nachgewiesen werden.

**Kalk in der Membran.** Abgesehen von den bereits besprochenen Kalkvorkommnissen findet sich der Kalk in den Membranen noch in anderen Bindungen vor, die noch wenig bekannt sind. Der Umstand, daß in der Membran nach dem Glühen gewöhnlich Kalk nachgewiesen werden kann und daß der Kalk schon für viele Keimpflanzen unumgänglich notwendig ist, bestimmte BÖHM (I, 12—13) zur Annahme, daß der Kalk für den Aufbau der Membran notwendig ist. „Um aus Stärke, dem Zucker usw. die Zellwand aufzubauen, ist der Kalk ebenso notwendig, wie für die Metamorphose des Knorpels im Knochen, der Kalk bildet das Skelett der Zellwand“.

In neuester Zeit hat sich HANSTEEN (I) auf Grund interessanter Versuche dieser BÖHM'schen Auffassung vollends angeschlossen. HANSTEEN zeigte, daß in kalkfreien Lösungen an solchen Stellen, wo das ausgebigste Flächenwachstum der Zellwände statthat, die Wände aufgelöst und daher zerstört werden.

Nach PAYEN (I) bildet pektinsaurer Kalk und Kaliumpektat den Kitt, der die Gewebszellen zusammenhält. Nach MANGIN (I) besteht die Mittellamelle hauptsächlich aus pektinsaurem Kalk und eine Isoherung der Zellen gelingt dadurch, daß man aus dem Calciumpektat zunächst durch alkoholische Salzsäure die Pektinsäure frei macht und in verdünnten Alkalien oder Alkalisalzen auflöst.

Mit Rücksicht darauf möchte ich hier eine Beobachtung von mir mitteilen, die in hohem Grade dafür spricht, daß in der Mittellamelle Kalk tatsächlich lokalisiert und gelüftet vorkommt. Wenn man nämlich die Epidermis der Zwiebel-  
schuppe von *Allium Cepa* mit reiner Schwefelsäure behandelt, so bilden sich sofort



oder nach wenigen Minuten gerade über den Mittellamellen Kriställchen von Gips, und zwar so lokalisiert, daß ein dem Mittellamellennetz entsprechendes Gipsnadelnetz entsteht (Fig. 19). Erst etwas später bilden sich die Nadeln auch an den zur Oberfläche der Schuppe parallelen Wänden. Vielleicht rührt dieser Kalk von dem Calciumpikrat her.

Die Interzellularsubstanz der Laminarien scheint das Calcium auch in größerer Menge zu enthalten, denn wenn man einen Schnitt in einen Tropfen einer Lösung von oxalsaurem Ammon einlegt, bedecken sich die Wände reichlich mit Kalkoxalatkristallen, während dies im Innern der Zellen nicht oder kaum der Fall ist (KYLIN I, 346). —

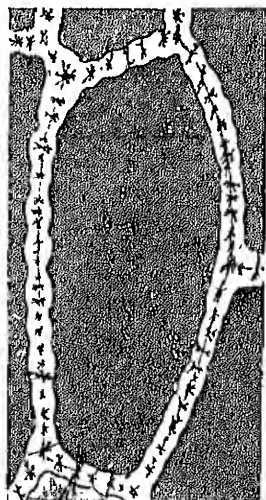


Fig. 19.

Nachweis des Kalkes in der Mittellamelle der Zellohaut der Epidermis bei der Zwiebelschuppe von *Allium Cepa*. Die Gipsnadeln erscheinen zuerst ganz lokal in der Mittellamelle. Vergr. 180.

Schließlich sei noch auf die jüngst von MOLISCH (XVIII) bei *Capparis callosa* und anderen *Capparis*-Arten aufgefundenen organischen Kalkkugeln hingewiesen. Sie finden sich fast in jeder Parenchymzelle des Blattstiels, abgesehen von den subepidermal gelegenen und den die Bastbündel umschließenden Zellen, die Kieselskörper enthalten. Die Kalkkugeln bilden ähnlich wie Cystolithen (p. 73) bei Behandlung mit 5proz. Oxalsäurelösung kugelige und sackartige Protuberanzen, die an Traubese Zellen erinnern und höchstwahrscheinlich aus Häuten von Kalkoxalat bestehen. An welche Säure der Kalk in den Kugeln gebunden ist, erscheint vorläufig nicht bekannt.

## 5. Magnesium.

### Nachweis.

Zum Nachweis des Magnesiums gibt es viele Reaktionen, die auf der Fällung des Magnesiums durch verschiedene Säuren und Salze beruhen, die aber von sehr verschiedenem Werte sind. RICHTER (1) hat alle diese Reaktionen kritisch genau geprüft und kommt zu dem Ergebnis, daß die Reaktionen, die zur Ausfällung von  $MgNH_4PO_4 \cdot 6H_2O$  führen, bestens empfohlen werden können und daß die anderen Proben, z. B. die mit Kalumpyroantimoniat, Ferrocyankalium, Oxalsäure, Kalumoxalat und andere sich bei weitem nicht mit der erwähnten messen können, da sie zu wenig empfindlich sind und nur dann zur Kontrolle herangezogen werden sollen, wenn Mg in größerer Menge vorliegt.

### Die Fällung des Mg als Magnesiumammoniumphosphat

Nach BEHRENS (I, 43) kann als Fällungsmittel Natriumphosphat oder das bei Lötlöhrversuchen gebräuchliche Doppelsalz von Natriumphosphat und Ammoniumphosphat, das sogenannte Phosphorsalz, benutzt werden.

RICHTER verfährt in folgender Weise:

1. Die zu überprüfenden Schnitte werden in Tröpfchen von 0,1%  $NaNH_4PO_4 \cdot 12H_2O$  gegeben und die unbedeckten Präparate

werden sofort in eine feuchte Kammer gebracht, in der ein Schälchen mit konzentriertem Ammoniak behufs Erzeugung einer Ammoniakatmosphäre untergebracht ist. Oder man bringt den Versuchstropfen über den Hals einer Ammoniakflasche. Nach ganz kurzer Zeit (eine bis wenige Minuten) — das Reagens dringt wegen der schnellen Vergiftung der Zellen durch das Ammoniak rasch ein — entstehen die charakteristischen Schneeflocken-Kristalle und andere Kristalle (s. Fig. 20). Die Kristalle gehören dem rhombischen System an, sind hemimorph und zeigen die Kombination zweier oder mehrerer Domen mit der Basis. Sehr charakteristisch sind die Dach- und Sargdeckelformen (*a*) und die infolge ungleichmäßiger Fortbildung schmetterlingsartigen Gestalten (*b*). Häufig sind auch Kreuze (*c*), sechsstrahlig gefiederte Sterne (*d*) und trapezförmige und dreieckige Täfelchen (*e*).

2. In Tropfen z. B. von Milchsäften, Pflanzenextrakten, Blutungs- und Guttationssaft erfolgt der Magnesiumnachweis mit dem gleichen Reagens derart, daß man neben das mit Kappillarröhrchen aufgetragene Safttröpfchen ein ebenso großes Reagenztröpfchen gibt und die beiden Tröpfchen durch ein dünnes Glasstäbchen zur Berührung bringt. Gleich darauf wird der Objektträger in die Ammoniakammer gegeben, worauf sich dann bei Gegenwart von Mg fast momentan in der Diffusionszone die erwähnten Schneeflockenkristalle zeigen

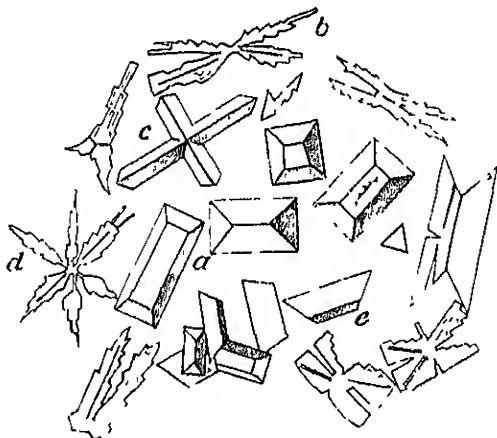


Fig. 20  
Kristalle von Magnesiumammoniumphosphat  
Vergr. 255.

3. Pflanzenaschen werden in dieser Weise untersucht, daß die Asche zunächst mit verdünnter (10%) HCl aufgenommen, die Lösung mit einer Kappillare aufgesogen und auf den Objektträger aufgetragen wird. Dann verfährt man in der unter 2 angegebenen Weise

Läßt man die Präparate länger stehen, so treten an Stelle der Schneeflockenkristalle auch Schwalbenschwanz- und Sargdeckelformen auf, die man, genügende Mengen von Mg vorausgesetzt, bei alleiniger Verwendung einer 5—10proz. Lösung des Phosphorsalzes fast ausschließlich erhält.

4. Die  $\text{NH}_3$ -Reaktion. Da in vielen Fällen, insbesondere in Aschen, aber auch in Pflanzensäften und Gewebeschnitten anorganisch gebundene Phosphorsäure und Mg vorhanden ist, vermag man nach REICHERT (1) einfach durch Eintragen der im destillierten Wasser liegenden Schnitte oder der Lösungströpfchen von Aschen in die Ammoniakammer das Mg und die Phosphorsäure direkt als phosphorsaure Ammon-Magnesia nachweisen.

## Vorkommen.

Da sich das Mg innerhalb der Grenzen der Reaktionsempfindlichkeit ( $0,0012 \mu\text{g}$  nach BEHRENS) in Geweben, Pflanzensäften und Aschen in der Regel nachweisen läßt und da es für jede Pflanze, gleichgültig, ob grün oder nicht grün, unerlässlich ist, so dürfen wir wohl annehmen, daß es (zum mindesten zeitweise) ein Bestandteil jeder Zelle ist. Entweder in festgebundener organischer Form, wo es sich erst in der Asche nachweisen läßt, oder in locker gebundener organischer und in anorganischer Form. Organisch geknüpft ist es häufig an Eiweiß und an das Chlorophyll (WILLSTÄTTER I). Die Notwendigkeit des Mg für Pilze und die Anwesenheit des Mg im Chlorophyllmolekül sprechen dafür, daß dem Mg in der Pflanze zum mindesten zwei verschiedene Funktionen zufallen müssen.

Nach SCHIMPER (I, 227 ff.) geben das Blattmesophyll, das Cambium, die Vegetationskegel, überhaupt Meristome und Siebröhrenlücke zumeist intensive Mg-Reaktion.

Ein Beispiel für eine außerordentliche Anhäufung von Mg ist nach MOLISCH (VI, 49) der Milchsaft von *Ficus elastica*. Läßt man einen größeren, frisch aufgefundenen Tropfen unterm Deckglas verdampfen, so scheiden sich zahlreiche runde oder rundlich viereckige Sphärite einer Magnesiumverbindung aus, die nicht selten

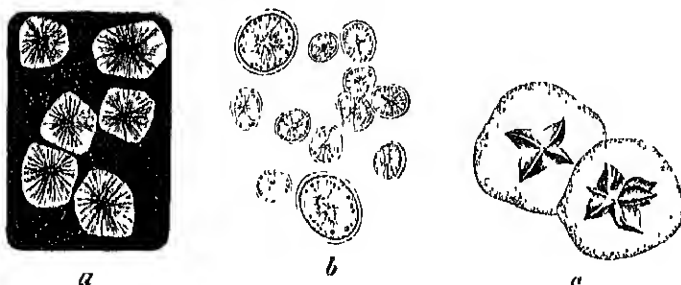


Fig. 21.

- a) Sphärite einer Magnesiumverbindung aus dem Milchsaft von *Ficus elastica* Vergr. etwa 60.  
b) und c) Sphärite einer Magnesiumverbindung aus dem Milchsaft von *Euphorbia mamillaris* L. Vergr. etwa 300.

schon mit freiem Auge erkennbar sind. Analog verhält sich der Milchsaft vom Kuhbaum, *Galactodendron utile* H. B. & K. und der von *Euphorbia mamillaris* (s. Fig. 21). Viel Magnesium steckt auch in den Globoiden der Samen.

Magnesiumoxalat. Ein zweites Vorkommen einer in fester Form abgeschiedenen Mg-Verbindung hat MONTEVERDE (I) festgestellt. Sie tritt als Mg-Oxalat in Form stark doppelt-brechender, radialstreifiger Sphärokrystalle in fast jeder Zelle in der Epidermis trockener Blätter zahlreicher Paniceen auf. Gefunden wurde es bei 13 *Panicum*-, 8 *Setaria*-, 5 *Cenchrus*- und 2 *Paspalum*-Arten. Bei *Setaria viridis* tritt es auch in frischen Blättern auf.

## 6. Kalium.

## Nachweis.

1. Reaktion mit Platinchlorid. Mit einer 10proz. Platinchloridlösung geben Kaliumverbindungen, wenn reichlich vorhanden,

somit einen lebhaft gefärbten kristallinen Niederschlag; bei verdünnten Lösungen entstehen während der Verdunstung gelbe<sup>1)</sup>, stark lichtbrechende Kristalle von tesseralem Kaliumchloroplatinat  $K_2PtCl_6$ : vorherrschend Oktaeder, Hexaeder und Kombinationen derselben, seltener Rhombendodekaeder, und kleeblattartige Aggregate (Fig. 22). Die Kristalle sind stark lichtbrechend, glänzend und erscheinen im reflektierten Lichte halbmimetisch. Sie sind im Wasser schwer, im Alkohol noch schwerer löslich.

Dieselbe Reaktion geben auch Verbindungen des Cäsium, Rubidium und Ammonium. Die beiden ersteren kommen im Pflanzenreiche so selten und in so minimalen Mengen vor, daß man von ihnen abssehen kann, dagegen ist Ammonium sehr häufig und daher das Resultat bei Zellen und Geweben stets zweideutig. Nur die Reaktion mit der Asche gestattet, da Ammonium darin nicht erscheint, einen sicheren Schluß. Das Platinchlorid des Handels ist häufig kaliumhaltig. Man muß beim Ankauf darauf achten und vor der Benutzung jedenfalls die Platinchloridlösung durch Verdunstenlassen eines Tropfens auf die Anwesenheit von Kalium prüfen.

**Prüfung der Asche.** Man setzt zur Probe ein kleines Tröpfchen 1 proz. Salzsäure, um die Kali-Verbindungen zu lösen und fügt dann das Reagens hinzu, ohne mit einem Deckglas zu bedecken.

**Prüfung der Schnitte.** Frische Schnitte läßt man in dem unbedeckten Reagenztropfen liegen. SCHUMPER (I, 213) empfiehlt, um die Verdunstung zu beschleunigen, den Schnitt auf der Spiritusflamme bis zum Eintrocknen zu erwärmen und, während der Objektträger noch heiß ist, die Platinchloridlösung hinzuzufügen. Das Unangenehme dabei ist, daß der Schnitt schrumpft und luftthaltig wird.

Weit empfindlicher und intensiver finde ich die Reaktion, wenn man anstatt der wässerigen eine alkoholische Platinchloridlösung verwendet. Es entstehen dabei allerdings nicht so große Kristalle, allein sie bilden sich zumeist sofort in großer Menge und vielfach an Ort und Stelle in den Zellen, wodurch die Beurteilung der Verteilung des Kaliums in den Geweben wesentlich erleichtert wird. Zur Einübung empfehle ich Schnitte durch die Kartoffelknolle und die gelbe Rübe (*Daucus Carota*).

2. Von BEHRENS (I, 30) werden unter anderen noch die zwei Reaktionen namhaft gemacht: Die Fällung des Kaliums als Kalium-Phosphormolybdat mit Phosphormolybdänsäure und die Fällung als Kalium-Wismutsulfat. Da ich mit beiden Proben bei Geweben und Aschen keine befriedigenden Resultate erhalten habe, so gehe ich nicht auf sie ein.

3. Reaktion mit Natriumkobaltnitrit. DE KONINCK (I) benutzte diese Salzlösung, der etwas Kobaltchlorid und Essigsäure zu-

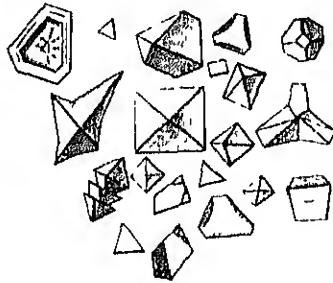


Fig. 22  
Kaliumchloroplatinat-Kristalle.  
Vergr. 285

1) In anthokynhaltigen Stoffen färben sich die Kristalle oft schön rot, weil sie den Farbstoff aufnehmen. So bei *Oxalis Ortgiesiana*.

gesetzt wurde, zum Nachweis des Kaliums. MACALLUM (I, 600; III) führte dieses Reagens in die Mikrochemie ein und gibt folgende Vorschrift für seine Bereitung. 20 g Kobaltnitrit und 35 g Natriumnitrit werden in 75 cem verdünnter Essigsäure (10 cem Eisessigsäure verdünnt auf 75 cem) gelöst. Sobald die darauf entstehende Stickstoffperoxyd-Entwicklung aufhört, wird die Lösung auf 100 cem verdünnt. Sollten die benutzten Chemikalien kaliumhaltig gewesen sein, so entsteht ein Niederschlag, der vor dem Gebrauche des Reagens abfiltriert werden muß. Ein Tropfen dieser klaren Lösung mit einer Kaliumsalzlösung zusammengebracht, erzeugt sofort einen orangegelben Niederschlag des Kaliumdoppelsalzes, der aus kleinen Kristallen, pentagonalen Dodekaedern besteht. Bei der gelben Rübe oder dem Stengel von *Tradescantia* kann man leicht aus dem Auftreten des Niederschlages und seinen Kristallen die Anwesenheit und Verteilung des Kaliums ermessen, aber wenn Kalium nur in sehr geringer Menge vorhanden ist, kann ein Niederschlag leicht übersehen werden. Man überführt ihn dann, um ihn kenntlich zu machen, in schwarzes Kobaltsulfid. Zu

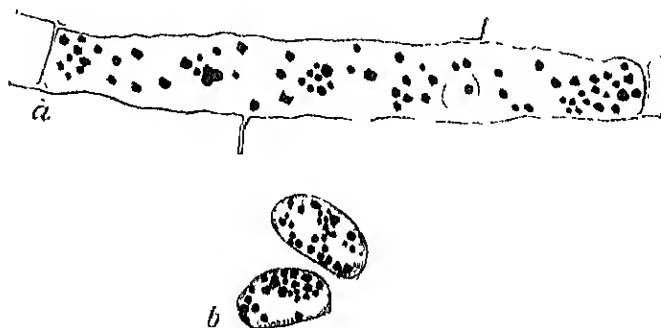


Fig. 23.

Nachweis des Kaliums mit Natriumkobaltnitrit und Schwefelammonium  
*a* Epidermiszelle von *Zea mays*. Der Zellinhalt enthält schwarzes Kobaltsulfid, aber nicht im Kern. *b* Dieselben Reaktionen mit dem Pollen von *Hyacinthus orientalis*.  
 Vergr. bei *a* und *b* 180.

diesem Zwecke muß zunächst das überschüssige Reagens aus dem Schnitte ausgewaschen werden. Man wäscht nach der Vorschrift von MACALLUM im Maximum 20 Minuten in eiskaltem Wasser von 1–4° C, in dem sich nun äußerst wenig von dem gebildeten Niederschlag löst. Bringt man hierauf zu dem gründlich gewaschenen Präparate einen Tropfen einer frisch bereiteten Mischung von gleichen Teilen Glycerin und Ammoniumsulfidlösung — die letztere bereitet durch Einleiten von  $H_2S$  in Ammoniaklösung von 0,96 spezifischen Gewicht — so entsteht überall da, wo früher ein Niederschlag von Kaliumkobaltnitrit war, tief-schwarzes Kobaltsulfid (Fig. 23). Kreatin und Ammonium geben eine analoge Reaktion. Von Kreatin kann der Botaniker absehen, aber Ammonium könnte wohl zur Verwechslung mit Kalium Veranlassung geben, und in dieser Beziehung haftet der Reaktion dieselbe Schwäche an, wie der mit Platinchlorid. — Durch Glühen kann Ammonium allerdings entfernt werden, aber dann kann der Nachweis nur in der Asche geführt werden. WEEVERS (I, 202) half sich so, daß er von gleich-

großen Portionen des Objektes (z. B. bei Allium und Spirogyra), die eine mit Wasser extrahierte und das Extrakt bis auf einige Zentimeter einengte, die andere Portion glühte und die Asche in gleichviel Wasser löste. Nach dem Filtrieren der Lösung wurde ein Tropfen des Filtrates mit Natriumkobaltnitrit versetzt. Fiel die Reaktion in beiden Fällen gleich stark aus, so konnte man auf völlige oder fast völlige Abwesenheit von Ammoniumsalzen schließen.

Ich habe gefunden, daß man die Bereitung des Natriumkobaltnitrit-Reagens sehr vereinfachen und sich beim Auswaschen der Präparate von dem eiskalten Wasser unabhängig machen kann, wenn man in folgender Weise vorgeht: Anstatt Kobaltnitrit<sup>1)</sup> und Natriumnitrit in den angegebenen Verhältnissen in Essigsäure zu lösen, verwende man gleich fertiges Natriumkobaltnitrit und gebe zu irgendeiner Gewichtsmenge soviel 10proz. Eisessigsäure, bis das Salz sich oben vollständig gelöst hat. Um den Überschuß des Reagens aus den Zellen oder Geweben zu entfernen, bade man anstatt in eiskaltem Wasser in 10proz. Essigsäure, in der sich der gelbe Niederschlag selbst nach mehreren Stunden nicht löst. Dann nimmt man den Schnitt etwa nach  $\frac{1}{4}$ — $\frac{1}{2}$  Stunde heraus, schwenkt ihn ein paar Stunden noch in destilliertem Wasser hin und her und versetzt ihn dann mit Glyzerinammoniumsulfid. Nach meinen Erfahrungen verliert das Natriumkobaltnitrit-Reagens schon nach 1—2 Tagen seine Wirksamkeit und muß daher stets frisch bereitet werden.

#### Vorkommen.

Das Kalium ist ein integrierender Bestandteil jeder Pflanze, vielleicht jeder Zelle. Die in den Pflanzen vorkommenden Kaliumengen sind sehr verschieden, schon LIEBIG bemerkte, daß Gewächse, die reich an Kohlehydraten sind, sich auch durch großen Kaligehalt auszeichnen (Kartoffel, Zuckerrübe, Weinstock), doch können auch Pflanzen, in denen es zu keiner auffallenden Anhäufung von Kohlehydraten kommt, reichlich Kali führen, wie z. B. Tabak, Hopfen, Wermut und Erdrauch. Auf den großen Kaligehalt der Grasknoten hat PIERRE (1), auf den der Meristeme, des Blattmesophylls, mancher Pollen und vieler Siebröhren (Cucurbita, Cerealis) hat SCHMIDT (1, 227—228) hingewiesen. In Samen findet sich nach demselben Autor das Kalium in organischer Bindung, um bei der Keimung namentlich in dem gestreckten Stengelparenchym und dem der Blattrippen als Kaliphosphat zu wandern. CZAPK (1, 332) hat mikrochemisch Kalium in Wurzelabscheidungen, NESLER (1) im Sekretwasser von *Phaseolus multiflorus* als kohlensaures Kali, und BLAU (1) in Form von Kaliumnitratkristallen intrazellulär in Glyzerinpräparaten bei *Cucurbita Pepo* nachgewiesen.

MACALLUM (1, 605) verdanken wir die auf mikrochemischem Wege gewonnene Tatsache, daß Kalium im Cytoplasma der Pflanzenzellen mit Ausnahme der Cyanophyceen überall anzutreffen ist, aber niemals im Kern. Diese Beobachtungen wurden von WEEVERS bestätigt. MACALLUM beobachtete vielfach, daß innerhalb der Zelle der Kaliumkobaltnitritniederschlag oft lokal gehäuft auftritt und schloß daraus auf eine in der intakten Zelle vorhandene Häufung einer Kaliverbindung. WEEVERS hält aber diesen Schluß wenigstens nicht für allgemein berechtigt, sondern glaubt

1) Kobaltnitrit geht nach einiger Zeit zum Teil in Nitrat über. Dies hat jedoch, so lange der größere Teil als Nitrit noch vorhanden ist, nichts zu bedeuten (MACALLUM 1, 602). Hiergegen benutzte WEEVERS ohne Nachteil überhaupt nur Kobaltnitrat.

vielmehr, daß in vielen Fällen die lokale Häufung des Niederschlags im Zellinhalt erst sekundär zustande kommt. Ich möchte darauf hinweisen, daß eine lokale Anhäufung des Niederschlags in sehr saftreichen Zellen schon infolge der Schwerkraft erfolgen kann, ähnlich wie bei Stärkekörnern und kleinen Kalkoxalatkristallen.

Aus WEEVERS Arbeit, der das Natriumkobaltnitrit mit gutem Erfolge vielfach, mikrochemisch verwertet hat, sei noch folgendes hervorgehoben. Die Vakuolen stellen den Hauptsitz des Kaliums dar, hingegen sind die Chromatophoren und das Chlorophyll kaliumfrei. Bei Phanerogamen ist die Kaliumreaktion besonders stark in den Vegetationspunkten und Reserveorganen. Im Vaseilteil ist sie schwach, im Siebteil stark. Reichlich findet sich Kali bei den sekundären Geweben der lebenden Zellen des Holzes, d. h. in den Markstrahlen und im Kambium, sowie im unverholzten Rindenparenchym, hingegen ist die Reaktion in den Gefäßen und Tracheiden schwach.

Welche Rolle das Kalium in der Pflanze spielt, läßt sich gegenwärtig nicht sagen, doch ist es nicht unwahrscheinlich, daß es beim Aufbau des Plasmas in den Vegetationspunkten und beim Zustandekommen des Turgors im Spiele ist.

### Natrium.

#### Nachweis.

Unter den von BEHRENS (I, 32) angeführten vier Reaktionen hat mir die relativ besten Dienste diejenige geleistet, die auf der Fällung des Natriums als Natrium-Uranylacetat,  $\text{NaC}_2\text{H}_3\text{O}_2 \cdot \text{UO}_2(\text{C}_2\text{H}_3\text{O}_2)_2$ , beruht.

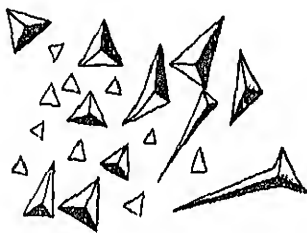


Fig. 24.  
Kristalle von Natrium-Uranyl-  
acetat. Vergr. 180.

Uranylacetat wird in der zehnfachen Menge stark verdünnter Essigsäure gelöst. Wird ein Tropfen dieser Lösung mit dem Salzürsatzstand des Versuchstropfens oder dem sehr eingeeengten Versuchstropfen zusammengebracht, so entstehen zunächst am Rande dreistrahlige Kristallskelette, später gut ausgebildete Tetraeder von verschiedener Größe  $10 \mu$  bis  $70 \mu$  (Fig 24). Die kleinen sind fast farblos, die großen

lichtgelb. Die Ecken des Tetraeders sind oft durch das Gegentetraeder abgestumpft. — Das käufliche Uranylacetat ist gewöhnlich Natriumhaltig. Es läßt sich reinigen, indem man es in absolutem Alkohol in der Kälte löst und das Filtrat bis zum Eintrocknen abdampft (SCHIMPER I, 215). — Sind lösliche Verbindungen von Mg, Fe, Co, Ni und Cu vorhanden, so entstehen bei der Reaktion wässrige Tripelacetate, die nur etwa 1,5% Natrium enthalten. Für den Phytochemiker kommt wohl nur das Magnesium in Betracht. Da nun wohl jede Zelle Magnesium enthalten dürfte, so kommt es oft zu dieser Reaktion, ja sie tritt bei geringem Gehalt an Natrium oder bei sehr großer Menge Magnesium ausschließlich auf. Die Kristalle des hierbei entstehenden Natrium-Magnesium-Uranylacetats haben die Formel  $\text{Na}(\text{C}_2\text{H}_3\text{O}_2) \cdot \text{Mg}(\text{C}_2\text{H}_3\text{O}_2)_2 \cdot 3\text{UO}_2 \cdot (\text{C}_2\text{H}_3\text{O}_2)_2 - 9\text{H}_2\text{O}$ . Diese Verbindung tritt in Form kleiner schwachgelblicher oder farbloser rhomboedrischer Kristalle auf, von der Kombination RoR mit tetraedrischem Habitus oder R. — RoR vom Aussehen eines Oktaeders.

Soll das Natrium in Schnitten nachgewiesen werden, so legt man das Objekt in einen Tropfen des Reagens und läßt ihn unbedeckt verdampfen. Die Essigsäure des Reagens tötet die Zellen, die Natriumverbindungen treten dann aus den Zellen heraus und geben dann am Rande des Tropfens die beschriebenen Kristallformen.

#### Vorkommen.

Das Natrium ist im Pflanzenreiche ungemein verbreitet und in großer Menge gewöhnlich bei Meeres- und Strandpflanzen vorhanden. Doch findet es sich auch bei manchen Kulturgewächsen reichlich vor, so bei der Rübe (*Beta*), Kartoffel (*Solanum*), Spinat (*Spinacia*) und Kohl (*Brassica*). Es können daher diese Pflanzen mit Vorteil zur Einklebung der Reaktion herangezogen werden. Obwohl dem Kalium verwandt, kann Natrium das Kalium doch nicht ersetzen und soweit unsere Erfahrungen reichen, können selbst typische phanerogame Halophyten wie *Salicornia* ihre Entwicklung ohne Na bis zur Fruchtbildung vollenden, ändern aber bei Ausschluß des Natriums ihren Habitus. Nur Diatomeen können nach RICHTER (II) und verschiedene Meeresalgen (*Ulva*, *Gigartina*, *Ptilota*, *Iridaea* und *Prionitis*) nach OSTERHOUT (I) des Natriums nicht entbehren. Eine systematische mikrochemische Untersuchung über die Verteilung des Natriums in der Pflanze steht noch aus und wäre sehr erwünscht.

### 8. Ammonium.

#### Nachweis.

1. Der beste Nachweis des Ammoniaks beruht auf der Überführung in freies Ammoniak durch Kali- oder Natronlauge. Man verfähre auf folgende Weise: Auf einen Objektträger wird ein oben und unten gut abgeschliffener Glasring von 14 mm bis 25 mm innerer Breite und 5 mm Höhe aufgesetzt. Mitten auf den Grund der Glaskammer kommt ein kleines Stück des zu prüfenden Organes oder Gewebes und auf dieses ein das ganze Probeobjekt bedeckender Tropfen von Kalilauge. Hierauf wird der Glasring sofort mit einem Deckgläschen bedeckt, nachdem man zuvor auf die Unterseite desselben ein kleines Tröpfchen Platinechlorid gebracht hat (Fig. 25). Bei Gegenwart von Ammoniak entstehen nach einiger Zeit die charakteristischen Oktaeder von Ammoniumplatinechlorid (vgl. die Fig. 22). Nimmt man anstatt des Platinechlorid ein Tröpfchen NESSLERSchen Reagens, so entsteht ein gelber Niederschlag. Als Übungsbeispiel wähle man Schnitte durch die Zwiebelschuppe (*Allium Cepa*), Blattstücke von *Tradescantia viridis* oder Stengelquerschnitte von *Phaseolus multiflorus*.



Fig. 25

Kammer zum Nachweis des Ammoniaks

a Objektträger, b Glasring, c Deckglas,  
d Gewebeschnitt mit KOH-Tropfen  
e Platinechlorid-Tropfen

Das geschilderte Verfahren hat insofern einen Übelstand, als WEEVERS (I, 65) gezeigt hat, daß auch aus Amidon Ammoniak durch Kalilauge freigemacht werden kann, allerdings erst nach 24–48 Stunden. Harnstoff, Allantoin, Tyrosin, Arginin geben keine, Leucin eine schwache, hingegen Asparagin eine deutliche Ammoniakbildung.



Um daher diesen Fehler zu vermeiden, verwendet WEEVERS anstatt der Kalilauge  $MgO$  und da dieses wegen seiner schweren Löslichkeit zu langsam in die Zellen eindringt, bringt er in die Glaskammer zur raschen Abtötung der Zellen noch Chloroform. Sein Verfahren besteht also in folgendem: Man legt auf den Boden der Kammer das zu prüfende Gewebestück, fügt  $MgO$ -Pulver und einen Tropfen Wasser hinzu und legt daneben einen kleinen Wattebausch mit einem Tropfen Chloroform. Nach der Tötung des Gewebes entweicht das eventuell gebildete Ammoniak und gibt mit dem Tropfen Platinchloridlösung auf dem Deckglas die Kristalle von  $(NH_4)_2PtCl_6$ .

KYLIN (I, 341) weist das Vorkommen von Ammoniumsalzen bei Meeresalgen in der Weise nach, daß die mit destilliertem Wasser abgepülten Thallustheile in ein Uhrgläschen gelagt und mit verdünnter (5 %) Natronlauge übergossen werden. Hierauf wird das Uhrgläschen mit einem andern bedeckt, auf dem ein angefeuchtetes rotes Lackmuspapier angeklebt ist. Nach 5—10 Minuten werden die Ränder des Papiers blau gefärbt und nach 30—45 Minuten ganz blau. Beim Trocknen nimmt es wieder die ursprüngliche rote Farbe an.

2. Reaktion mit Nesslerischem Reagens (vgl. p. 19) Bekanntlich geben geringe Spuren von Ammoniak mit diesem Reagens eine gelbe und bei Anwesenheit größerer Mengen eine braune Färbung. Von verschiedener Seite wird diese Probe zum direkten Nachweis des Ammoniaks im Gewebe der Pflanze empfohlen. In der Tat gehen sehr viele Pflanzen eine Gelbfärbung; allein wenn man bedenkt, daß verschiedene Körper, wie Sarkin, Xanthin, Harnsäure, Kreatin, Kreatinin, Alloxan (NICKEL I, 95) eine schwefelgelbe Färbung geben und daß zahlreiche Pflanzenstoffe, z. B. viele Gerbstoffe und andere mit der freien Kalilauge des NESSLERSchen Reagens schon allein eine gelbe Färbung annehmen, so folgt daraus, daß dieses Reagens zum direkten Nachweis des Ammoniaks im Gewebe selbst wohl nicht verwertet werden kann. Man ist daher vorläufig nur auf das unter 1 angegebene Verfahren angewiesen.

#### Vorkommen.

Ammoniumsalze genießen im Pflanzenreiche eine weite Verbreitung, finden sich aber meist nur in geringen Mengen vor. Der Blutungssaft der Weimbe (Vitis), des Ahorns (Acer), der Birke (Betula) und der Runkelrübensaft geben nach Freimachung des Ammoniaks aus seinen Verbindungen einen starken Ammoniakgeruch. Viele Pflanzen wurden zu verschiedenen Zeiten auf ihren Gehalt an Ammoniak geprüft und fast überall wurde es gefunden. In frischen Pflanzen betrug der Ammoniakgehalt zwischen 0,05 bis 0,22 % (FIERMAYER I, 765).

Umfassende, auf die niedersten bis zu den höchsten Familien sich erstreckende, mikrochemische Untersuchungen über die Verbreitung des Ammoniaks verdanken wir WEEVERS (I). Er fand freies Ammoniak im Bereiche der Phanerogamen nur in den Wurzelknöllchen und in dem der Kryptogamen zuweilen bei Haupfzen und Flechten.

Ammonsalze hingegen fanden sich überall mit Ausnahme der mykotrophon und insektenfressenden Gewächse. Verhältnismäßig viel Ammonsalze kommen bei Lauch und Kohlarten vor, nur Spuren oder gar keine zeigen die Pflanzen saurer mooriger Heideböden: Orchis-Arten, Drosera-Arten, Calluna, Erica, Pinguicula, Gentiana pneumonanthe usw. Von Interesse ist, daß die Wurzelknöllchen der Schmetterlingsblütler, der Myrica gale und Alnus glutinosa große Mengen enthalten.

## b) Anionen.

### 1. Schwefel.

Sulfate werden gewöhnlich durch Überführung in Gips mittels Calciumacetat nachgewiesen. Ich habe mit dieser Reaktion in Gewebeschnitten keine brauchbaren, verlässlichen Resultate erhalten. Gewöhnlich entstehen keine Fällungen, wahrscheinlich weil die Sulfatlösungen in den Zellen zu verdünnt sind. Mit Bariumchlorid erhält man zwar im Parenchym häufig Niederschläge, aber diese sind meist amorph und so wenig charakteristisch, daß sie über die Gegenwart von Sulfaten nichts Sicheres aussagen. Dasselbe gilt von der Fällung als Bleisulfat durch Bleiacetat. Die Niederschläge sind in der Zelle gewöhnlich amorph, gar nicht charakteristisch und werden auch durch andere organische Körper veranlaßt.

Die von SCHIMPER (I, 219) einigermaßen empfohlene Fällung des  $\text{SO}_4$ -Ion als Strontiumsulfat lieferte mir keine verwendbaren Ergebnisse für lebende Gewebe und auch über die von ihm vorgeschlagene Fällung als Nickelsulfat vermag ich nichts Günstiges auszusagen.

BEIRRENS (I, 121) empfiehlt die Fällung durch Benzidinchlorhydrat und in der Tat gibt diese Substanz in wässriger Lösung selbst mit sehr verdünnten Sulfaten einen reichlichen Niederschlag von farblosen Nadeln und Blättchen. Schnitte durch Blätter von *Mesembryanthemum Salmi*, *Sempervivum tectorum*, Stengel von *Tradescantia guianensis*, *Begonia* sp. geben kristallinische, bei *Mesembryanthemum* schon makroskopisch deutlich als Trübung sichtbare Fällungen, die sich aus nadel-, plättchenförmigen, federigen oder anders geformten Kristallen zusammensetzen. Allein bei genauerem Studium stellt sich heraus, daß das Benzidinchlorhydrat zu Fällungen der verschiedensten Säuren neigt, die oft ähnlich sind und daher im Gewebe keinen eindeutigen Schluß auf Sulfate gestatten. Es sei z. B. erwähnt, daß Phosphorsäure, Apfelsäure, Oxalsäure und Valeriansäure kristallinische Fällungen geben, die, weil sie in der Zelle häufig vorkommen, leicht zu Verwechslungen Veranlassung geben können. Immerhin wird man dem Benzidinchlorhydrat in der Mikrochemie Aufmerksamkeit schenken müssen, da es vielleicht unter gewissen Kautelen zum Nachweis organischer Säuren wird verwendet werden können. Für Sulfate aber wird man nach einem neuen Reagens weiter suchen müssen und erst dann, wenn ein solches gefunden sein wird, wird man daran gehen können, das Vorkommen und die Verteilung der Sulfate mikrochemisch in der Pflanze mit Erfolg zu studieren.

Über das Auftreten von Gipskristallen in der Zelle s. p. 54.

Freier Schwefel. Eine der interessantesten phytochemischen Tatsachen ist das Auftreten von reinem Schwefel in den Zellen der farblosen und roten Schwefelbakterien. Sie leben im Meereswasser und süßem Wasser, wenn organische Substanz und eine gewisse Menge von Schwefelwasserstoff vorhanden sind und haben, wie WINOGRADSKY (I und II) gezeigt hat, die merkwürdige Fähigkeit, den aufgenommenen Schwefelwasserstoff zu Schwefel zu oxydieren, in den Zellen in Form von Kügelchen abzuscheiden (Fig. 26) und diese schließlich zu Schwefelsäure weiter zu verbrennen. Je nach den Kulturbedingungen können Schwefelbakterien bald viel, bald wenig, bald gar keinen Schwefel führen.

Schon CRAMER (I) und COHN (I) haben gezeigt, daß die Kügelchen aus Schwefel bestehen. Sie sind nach COHN unlöslich in Wasser und Salzsäure, hingegen löslich in einem Überschuß von absolutem Alkohol, in heißem Kali oder schwefligsaurem Natron. In chloresaurem Kali, Essigsäure und in Salpetersäure löst sich der Schwefel schon bei gewöhnlicher Temperatur. Daß sich die Schwefelkügelchen auch in Schwefelkohlenstoff lösen, kann man leicht zeigen, wenn man die Schwefelbakterien zunächst eintrocknen läßt und dann mit Schwefelkohlenstoff behandelt. Dieser dringt dann leicht in die Zellen ein und löst unter Zurücklassung eines kleinen Restes den Schwefel auf.

Die Kügelchen bestehen nach WINOGRADSKY (I, 518) und nach CORSINI (I) nicht aus festem Schwefel, wie man früher gemeint hat, sondern repräsentieren auch bei gewöhnlicher Temperatur Tropfen halb-

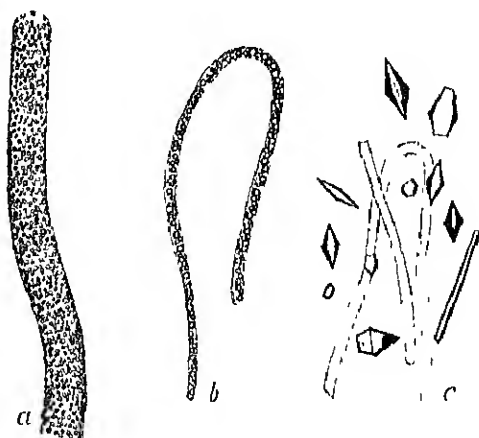


Fig. 20.

#### Schwefelbakterien.

*a* Beggiatoa mirabilis, *b* Beggiatoa alba, beide mit Schwefelkügelchen im Zellinhalt. *c* Abgestorbene Fäden von Beggiatoa alba, aus denen nach längerem Liegen im Glycerin der Schwefel herausdiffundiert und außerhalb des Zellfadens ankrystallisierte.

Vorgr. 285

flüssigen öligen Schwefels. Diese fließen beim Erhitzen auf 70°C zu großen Tropfen zusammen und verwandeln sich dann leicht in Schwefelkristalle. Bei Behandlung von Beggiatoafäden mit konzentrierter, wässriger Pikrinsäurelösung durch 1 Minute und nachherigem Auswaschen in Wasser findet die Umwandlung der Tropfen in Schwefelkristalle schon nach 24 Stunden statt. Die Fäden bedecken sich dann zumeist mit monoklinen Prismen in Gestalt von sehr dünnen Täfelchen oder schwärzlichen rhombischen Oktaedern. Wenn man zu einer Lösung von Calciumpentasulfid Salzsäure zusetzt, so entsteht

Schwefelmilch, deren Kügelchen, frisch unter dem Mikroskop untersucht, im wesentlichen dasselbe Verhalten wie die Schwefelkügelchen der Schwefelbakterien aufweisen.

Ich habe die Beobachtung gemacht, daß sich die Schwefelbakterien außerordentlich schwer so in Dauerpräparaten erhalten lassen, daß die Schwefelkügelchen intakt bleiben. Mag man Fixierungsmittel anwenden oder nicht, mag man in Wasser, in Glycerin oder in anderer Flüssigkeit präparieren, immer findet man nach längerer Zeit die Kügelchen in den Zellen verschwunden und außerhalb der Zellen in Schwefelkristalle umgewandelt. Nur in einer einzigen Flüssigkeit konnte ich jahrelang die Schwefelbakterien mit ihren Schwefelkügelchen tadellos schön erhalten, und das war eine gesättigte wässrige Zuckerlösung. Solche Präparate werden, um das Ankrystallisieren des Zuckers zu verhindern, mit Lack verschlossen.

Mit den Schwefelkugeln dürfen nicht die Kügelchen aus kohlen-saurem Kalk verwechselt werden, die GICKELHORN in manchen Purpurbakterien jüngst nachgewiesen hat.

NATHANSOHN (I) hat eine neue Gruppe mariner Schwefelbakterien entdeckt, die die Fähigkeit haben, Thiosulfate zu Tetrathionsäure und Schwefelsäure zu oxydieren. Bei diesen findet aber niemals intrazellulär eine Schwefelausscheidung statt, sondern bloß extrazellulär. Die Kolonien dieser Bakterien umgeben sich mit einem Hof von Schwefelkugeln, die genau so aussehen wie die der anderen Schwefelbakterien, z. B. eines Beggiatoafadens.

HINZE (I) beobachtete in Neapel mehrmals Oseillarien, die in stark nach Schwefelwasserstoff riechenden Kulturen auftraten und gleichfalls Schwefelkugeln enthielten. Diese Kügelchen dürfen nicht mit den sogenannten Gasvakuolen KLEBAINS (I), die aber nach MOLISCH (X und XI) sicherlich nicht aus Gas bestehen, bei verschiedenen Cyanophyceen verwechselt werden. MOLISCH nennt sie Schwefelkörperchen oder Airosomen. Sie lassen sich vorläufig nur negativ charakterisieren. Sie sind kein Gas, kein freier Schwefel, kein Eiweiß, kein Harz, kein Fett und kein Gerbstoff. Meiner Ansicht, daß es sich um kein Gas handelt, haben sich FISCHER (I) und andere angeschlossen. Nach dem zuletzt genannten Autor veranlaßt angeblich ein neues, von ihm entdecktes Kohlehydrat, das Anabaenin, das Bild der sogenannten Gasvakuolen.

Nach RACHBORSKI (II) bilden sich in den Hyphenenden von *Aspergillus niger*, wenn man diesen Pilz in einer 2proz. Lösung von thioschwefelsaurem Natrium zieht, zahlreiche Schwefeltropfen. Durch diese wird das Wachstum der Hyphen hochgradig gehemmt und die Fruktifikation verhindert. Auch bei *Rhizopus nigricans* konnte unter ähnlichen Verhältnissen eine Abscheidung von Schwefel in den Zellen beobachtet werden.

Anschließend daran sei noch an die eigentümlichen schwefelhaltigen Körper erinnert, die JÖNSSON (I) in den Hyphen von *Penicillium glaucum* gesehen hat, als sich dieser Pilz in einer  $\frac{1}{100}$ -Normalschwefelsäure eines Glaskolbens entwickelt hatte. Hier traten in den Hyphen zahlreiche kugelförmige, stark lichtbrechende Körper auf, die denen der Schwefelbakterien äußerlich sehr ähnlich waren, aber ihrer Natur nach von ihnen wesentlich verschieden sind. Es handelt sich hier nach JÖNSSON nicht um reinen Schwefel, sondern um eine Verbindung von Schwefel mit Fett.

**Schwefelverbindungen in Meristemen.** GOLZ (I) behandelte Pflanzengewebe mit alkalischem Nitroprussidnatrium und fand, daß die Meristeme der Stamm- und Wurzelspitzen, der Prokambiumstränge der Adventivwurzeln von *Vanilla planifolia*, ferner die primären Anlagen der Gefäßbündel von *Iris orientalis* und *Asphodelus albus* und Pollenkörner eine rotviolette Färbung annehmen. Er bringt die Schnitte zunächst für einige Minuten in eine verdünnte Lösung von Atzkali, läßt die überschüssige Lauge abtropfen und überträgt die Schnitte in einen Tropfen frischer Nitroprussidnatriumlösung. Färbt sich das Reagens infolge des überschüssigen Alkalis gelb, so überträgt er die Schnitte in einen neuen Reagenztropfen und wiederholt diese Manipulation so lange, bis sich die Nitroprussidnatriumlösung nicht mehr verfärbt. Es ist zu vermeiden, daß der Ausfall der Reaktion etwa durch die zu starke Einwirkung der Kalilauge beeinträchtigt wird. Sehr

schön gelang GOLA die Reaktion mit jungen Trieben von Asparagus. Der Farbenton der Reaktion ist wesentlich verschieden von der braunroten Färbung, die Gerbstoffe mit dem Reagens geben.

GOLA vermutet, daß es sich hier um die schwefelhaltige Aminosäure Cystein handle. Die Möglichkeit, daß die Reaktion in den Pflanzen von Cystein herrührt, soll, da ja diese Aminosäure die einzige bekannte schwefelhaltige Komponente des Eiweißes ist, nicht bestritten werden; immerhin bleibt die Sache aber, solange Cystin oder Cystein aus der Pflanze nicht makrochemisch gewonnen worden sind, hypothetisch.

## 2. Phosphor.

### Nachweis.

1. Molybdänsaures Ammon ist ein gutes Reagens (vgl. p. 19) auf Phosphorsäure. Wenn man ein Tröpfchen eines löslichen Phosphates mit einem Tröpfchen dieses Reagens

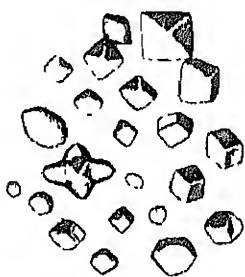


Fig. 27.  
Kristalle von Ammonium-  
phosphormolybdat.  
Vergr. 350.

vermischt, so entsteht je nach der Menge der Phosphorsäure sogleich oder nach längerer Zeit, rascher beim Erwärmen auf 40 bis 50° C ein gelber Niederschlag  $(NH_4)_3PO_4 \cdot 10MoO_3 \cdot 3H_2O$ , der aus Körnchen oder aus abgerundeten tesseralen Kristallen besteht, die meist eine Kombination von Würfel und Oktaeder darstellen (Fig. 27). Sie werden bis 22  $\mu$  groß und lösen sich in Ammoniak.

Der Übelstand, daß auch die Arsensäure dieselbe Reaktion und daß Kieselsäure einen ähnlichen Niederschlag gibt, fällt für den Phytochemiker weg, da Arsen in der Pflanze so gut wie fehlt und Kieselsäure zumeist nicht stören dürfte.

Pflanzenachsen der verschiedensten Arten geben deutliche oder sehr deutliche, oft schon dem freien Auge sichtbare Reaktion. Mit Schnitten gelingt die Reaktion gleichfalls, wenn anorganische Phosphate vorhanden sind; wenn aber der Phosphor in organischer Bindung vorliegt, dann gibt die Probe erst nach der Veraschung ein positives Resultat. Der direkte Nachweis der Phosphorsäure in den Geweben kann durch die Gegenwart gewisser organischer Substanzen, z. B. des weinsteinsäuren Kalis, verhindert werden, nach der Veraschung fällt natürlich diese Schwierigkeit hinweg. Wenn der Eintritt der Reaktion längere Zeit auf sich warten läßt, belasse man die Schnitte in der feuchten Kammer.

2. Die zweite Probe beruht auf der Fällung der Phosphorsäure als Ammoniummagnesiumphosphat,  $NH_4MgPO_4 \cdot 6H_2O$ . Sie ist sehr empfindlich, zuverlässig und hat vor der vorigen den Vorteil, daß die Kristalle, die bereits gelegentlich des Nachweises des Magnesiums auf p. 58 geschildert und abgebildet wurden, häufig in den Zellen selbst entstehen und die Probe durch organische Substanzen nicht verhindert wird.

Ein geeignetes Reagens erhält man durch Vermischen von 25 Volumen konzentrierter wässriger Magnesiumsulfatlösung, 2 Volumen konzentrierter wässriger Chlorammoniumlösung und 15 Volumen Wasser.

### Vorkommen.

Phosphor gehört zu den unumgänglich notwendigen Nährelementen, ist in den Pflanzen allgemein verbreitet und in jeder Zelle vorhanden. Er kommt ebenso wie das Eisen in leicht nachweisbarer Form und in fester organischer, d. h. maskierter Form vor.

Phosphate lassen sich mikrochemisch in den verschiedensten Pflanzen und Pflanzenteilen nachweisen. Große Mengen löslicher Phosphate fand SCHIMPER (I, 225) angehäuft im Parenchym der Stiele und Blätter der Roßkastanie, *Forsythia viridissima*, *Allium Cepa*, *Ranunculus repens*, *Anemone japonica*, *Lanium album*, *Solanum nigrum*, *Senecio vulgaris* und anderen. Die Phosphate finden sich nach SCHIMPER auch in der Wurzel angehäuft, hingegen nur in geringer Menge im Blattmosophyll.

L. IWANOFF (I) erweiterte SCHIMPERS Untersuchungen und fand unter anderem, daß Phosphate sich vornehmlich in jungen, wachsenden Pflanzenteilen anhäufen.

Die Verteilung der Phosphate innerhalb der verschiedenen Familien, biologischen Gruppen und innerhalb der Gewebe ist systematisch noch wenig untersucht und würde eine dankenswerte mikrochemische Aufgabe darstellen.

Über die in der Pflanze mitunter auftretenden ausgeschiedenen Phosphate vergleiche p. 56.

Maskierter Phosphor läßt sich durch die beiden angeführten Reaktionen nicht direkt nachweisen. Viele organische Phosphorverbindungen, wie die Proteïnphosphorsäure der Vitelline, die Glycerinphosphorsäure der Lecithine, die Nukleoproteide, Nukleine, Nukleinsäuren, die Globoide, das Phytin und andere gehören hierher. In der Asche dieser Stoffe kann dagegen der Phosphor bequem nachgewiesen werden. Es wäre aber für die Lehre der Zellchemie von hohem Werte, wenn man auch den maskierten Phosphor, am besten gleich an Ort und Stelle seines Vorkommens, zur Anschauung bringen könnte. An derartigen Versuchen hat es auch nicht gefehlt, allein bis jetzt haben sie leider zu keinem befriedigenden Resultat geführt, weshalb hier darauf nur ganz kurz eingegangen werden soll.

LILIENFELD und MONTI (I) haben zu diesem Zwecke die phosphorhaltigen Gewebeteile in die salpetersaure Lösung von Ammoniummolybdat gelegt. Das Phosphormolybdat wird dann an denjenigen Stellen, wo sich Phosphorsäure befindet, niedergeschlagen. Der entstehende gelbe Niederschlag muß, um wahrnehmbar gemacht zu werden, durch eine chemische Reaktion in einen gefärbten Körper verwandelt werden, und dazu benutzten sie die Reduktion durch Pyrogallol. Nach Behandlung der Gewebeschnitte mit dem Molybdänammoniumreagens wurden diese einige Minuten bis einige Stunden, um das Reagens zu entfernen, mit Wasser gewaschen und dann mit 20proz. Pyrogallollösung behandelt. Infolge der Reduktion der gebildeten Phosphormolybdänsäure soll je nach dem Phosphorgehalte eine gelbe, braune oder schwarze Färbung entstehen. Mit Hilfe dieses Verfahrens glaubten die beiden Verfasser in tierischen und pflanzlichen Zellen auch maskierten Phosphor nachweisen zu können, z. B. in Zellkernen, in Bakterien, Vitellinkristallen usw.

RACIBORSKI (I) hat die Methode LILIENFELDS und MONTIS kritisch geprüft und hat gefunden, daß die auftretende Schwärzung eine Folge der Reaktion des aus dem Präparate nicht vollständig entfernten Molybdänammoniums mit Pyrogallol ist.

und mit dem Phosphorgehalt des Gewebes in keinem Zusammenhange steht. RACHORSKI erklärt die diffus gelbe Färbung, die die Gewebe mit dem Phosphorsäure-reagens annehmen, durch die von der Salpetersäure des Reagens hervorgerufene Xanthoproteinsäure-Reaktion. Er führt die durch das Pyrogallol erzeugte braune Färbung auf Reste des nicht ausgewaschenen Ammoniummolybdat zurück und zeigt, daß die Kristalle von Phosphorammuniummolybdat mit Pyrogallol überhaupt keine braune, sondern eine grüne Farbe annehmen. Dieser Einwand gilt auch für das modifizierte Verfahren POLLACIS (I bis III), der als Reduktionsmittel Zinnchlorür verwendete.

MACALUM (I, 633, hier auch die übrige Literatur) machte bezüglich der Farbe des Reaktionsproduktes dieselbe Beobachtung wie RACHORSKI und verwarf aus diesem Grunde und anderen Gründen alle Beobachtungen von JULIENFELD und MONTI über die Verteilung des Phosphors in den Zellen. MACALUM war bestrebt, selbst eine Methode auszuarbeiten, durch die das nicht kristallisierte Phosphormolybdän sogar bei Gegenwart des ungebundenen Molybdäns mikroskopisch zur Anschauung gebracht werden könnte und glaubte dies durch den Gebrauch von salzsaurem Phenylhydrazin zu erreichen, „das in dem Reagenzglas die sonderbare Eigenschaft hat, die Molybdänverbindung auf eines der weniger gefärbten Oxyde in Gegenwart von Phosphorsäure oder Phosphaten zu reduzieren, aber welches in Gegenwart von Salpetersäure keine Wirkung auf Ammoniummolybdän allein hat“ (p. 634). Aber er machte selbst schon auf die Mängel seiner Methode aufmerksam und kam unter anderem unter dem Eindrucke der kritischen Arbeiten von SCOTT (1) und BENSLY (1) zu dem Schlusse, daß die ganze Frage von dem mikrochemischen Nachweis des maskierten Phosphors von neuem erforscht werden muß, eine Ansicht, der ich mich auf Grund eigener Erfahrungen nur anschließen kann.

### 3. Kohlensäure (und Kohlenstoff).

#### Kohlensäure.

1. Gasblasenentwicklung. Karbonate entwickeln auf Zusatz konz. Säuren, z. B. Salzsäure und Essigsäure, Gasblasen von Kohlensäure, die im Mikroskop unter Deckglas am Orte ihrer Entstehung beobachtet werden können. Es empfiehlt sich, konzentrierte Salzsäure anzuwenden, um die Gasblasenentwicklung zu beschleunigen, denn wenn sehr verdünnte Salzsäure benutzt wird, so kann die Kohlensäureentwicklung eventuell so langsam erfolgen, daß es zu keiner Gasblasenentwicklung kommt. Essigsäure hingegen ist, wenn es sich um Kalkkarbonat handelt, in mäßig verdünnter Form zu verwenden, da dieses sich in konzentrierter Essigsäure langsamer löst als in verdünnter (ZIMMERMANN I, 59).

2. Fällung als Strontiumkarbonat. Nach BEHRENS (I, 97) fällt Strontiumacetat aus Lösungen von Karbonaten Strontiumkarbonat in charakteristischen Sphäroiden. Diese Reaktion hat mir nur bei festem Kalkkarbonat in der Pflanze *Dienste* geleistet. *Cystolithen* von *Goldfussia isophylla* oder *Ficus elastica* liefern, mit einer ziemlich konzentrierten Lösung von Strontiumacetat behandelt, auf ihrer Oberfläche oder in der nächsten Nachbarschaft zahlreiche Sphärite von Strontiumkarbonat (Fig. 28). Die Schnitte werden nach Behandlung mit dem Reagens mit einem Deckglas bedeckt und in der feuchten Kammer mehrere Stunden sich selbst überlassen. Die Reaktion verläuft sehr langsam und erfordert längere Zeit.

### Kohlenstoff.

Obwohl in der Pflanze niemals reiner Kohlenstoff in irgendeiner Form vorkommt, so kann der Mikrochemiker vielleicht doch in die Lage kommen, angeflogenen Kohlenstoff z. B. in Form von Ruß, der sich auf oder in Gewebeschnitten eingefunden hat, auf seine Natur zu prüfen. Auch zum Nachweis von Kohleteilchen in alten Papieren, Papyrus, Mumienbinden, zum Nachweis von Ruß im atmosphärischen Staub wäre ein Reagens auf Kohlenstoff erwünscht. WIESNER (1) hat sich mit diesem Gegenstande eingehend beschäftigt und empfiehlt die Chromsäure-Schwefelsäure (vgl. p. 20) zum Nachweis von Kohle.

In diesem Reagens werden alle festen organischen Substanzen, die an dem Aufbau pflanzlicher und tierischer Gewebe teilnehmen, nach längerer oder kürzerer Zeit schon bei gewöhnlicher Temperatur durch Oxydation zerstört. Kohle aber erweist sich auch diesem Reagens gegenüber außerordentlich resistent. Die im Ruß vorhandenen Kohleteilchen werden innerhalb mehrerer Tage, Wochen, ja unter Umständen innerhalb mehrerer Monate nicht merklich verändert, während die öligen und teerartigen Begleitstoffe in Lösung übergehen. WIESNER (1) konnte die Kohlenatur uralter Tinten mit seinem Reagens nachweisen: Ein Stück eines alten, mit schwarzen Schriftzügen beschriebenen Papiers wurde auf dem Platinblech mit Chromsäure-Schwefelsäure behandelt. Nach einiger Zeit lost sich die ganze Papier- oder Gewebemasse auf und nur die Schriftzüge bleiben übrig. Erhitzt man nach Entfernung der Flüssigkeit das Platinblech, so verbrennt die zurückgebliebene tintenartige Substanz unter Hinterlassung von etwas Asche. Aus diesem Verhalten der schwarzen Tinte schließt WIESNER auf Kohle. Auf analoge Weise konnte von dem genannten Forscher nachgewiesen werden, daß das schwarze Lungenpigment, welches sich im Laufe des Lebens in den menschlichen Lungen ansammelt, gleichfalls aus Rußkohle besteht.

Anthrazit, Steinkohle, Holzkohle, Ruß und Graphit verhalten sich wie amorpher Kohlenstoff, d. h. diese Substanzen werden durch das Reagens außerordentlich langsam angegriffen, im Gegensatz zur Braunkohle, die zunächst einen Zellulose enthaltenden Detritus hinterläßt und schließlich, abgesehen von mineralischen Beimengungen, vollständig zerstört wird.

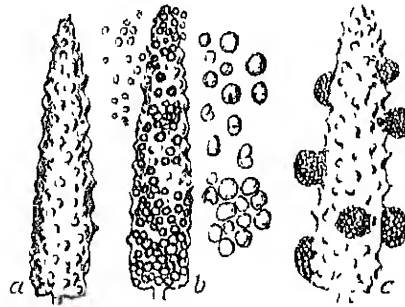


Fig. 28.

Cystolithen von *Goldfussia isophylla*  
Vergr. 180

- a Normal, mit kohlensaurem Kalk inkrustiert.
- b Mit Strontiumacetat behandelt, der kohlen-saure Kalk des Cystolithen wird als Strontiumcarbonat in Form von Sphäriten gefällt, die den Cystolithen bedecken. Rechts daneben die Sphärite in starkerer Vergrößerung (350).
- c Mit 5proz. Oxalsäure behandelt. Es bilden sich an der Oberfläche blasenartige Protuberanzen.



#### 4. Kieselsäure.

##### Nachweis.

1. Der Nachweis des Siliciums stützt sich auf die Fällung als Natriumfluosilikat,  $\text{Na}_2\text{SiF}_6$ . Bei leicht zersetzbaren Verbindungen erhält man nach HAUSHOFFER (I) die charakteristischen Kristalle von  $\text{Na}_2\text{SiF}_6$ , indem man die zu untersuchende Probe auf einen gefirnißten Objektträger (vgl. p. 14) bringt, mit einem Tropfen mäßig starker Fluorwasserstoffsäure und etwas Chlornatrium versetzt und dann stehen läßt. Je nach der Konzentration der Lösung bilden sich sofort oder nach einiger Zeit die hexagonalen Kristalle des Natriumfluosilikats: sechseckige Täfelchen, Sterne (40–70  $\mu$ ), sechsstrahlige Rosetten und sechseckige Prismen in Kombinationen mit der Pyramide (Fig. 29). Alle diese Kristalle zeichnen sich durch eine blaßrötliche Färbung aus.

Schwerer zersetzbare Siliciumverbindungen werden durch Zusammenschmelzen mit Soda zunächst aufgeschlossen und das Schmelzprodukt wird dann wie oben behandelt. Isomorph sind Borfluonatrium und Titanfluonatrium, beide kommen aber für den Phytochemiker nicht in Betracht. Die Kristalle des Kaliumfluosilikats erscheinen oft neben denen der entsprechenden Natriumverbindung, allein sie unterscheiden sich durch die Kristallform, denn sie sind sehr blasso farblose Würfel.

Die in einer Blei- oder Kautschukflasche aufbewahrte Flußsäure darf selbstverständlich nicht mit einem Glasstab auf den Objektträger gebracht werden, sondern man bedient sich hierzu einer Platinöse oder eines Kautschukstäbchens. Um die Objektträger vor Ätzung durch die Flußsäure zu schützen, empfiehlt es sich, sie mit Firnis oder Kanadabalsam vorher zu bestreichen.

KÄRNER (I, 262) verwendet anstatt des Deckglases ein Stückchen Gelatinepapier, und um die Objektlinse vor den Flußsäuredämpfen zu schützen, klebt er mittels Kanadabalsam ein Stückchen dieses Papiers auf das Objektiv.

Um gelöste Kieselsäure in den Zellsäften nachzuweisen, bringt man den ausgepreßten Tropfen oder dickere Schnitte auf den gefirnißten Objektträger und hängt das Objekt direkt über die Öffnung der Flußsäureflasche. Nach einiger Zeit entstehen bei Gegenwart von Kieselsäure und des Natriums die Kristalle von Natriumfluosilikat.

2. Kieselskelette durch Glühen. Die Kieselsäure ist oft in so großen Mengen in der Membran oder im Inhalt der Zelle vorhanden, daß man durch Glühen der betreffenden Objekte am Platinblech, oder wenn das Objekt zu zart ist, am Deckglas nach völliger Zerstörung der organischen Substanz sogenannte Kieselskelette erhält. Die Asche stark verkieselter Zellen zeigt genau den Umriß und die Form der ursprünglichen Zellen, oft mit allen Details ihrer feineren Struktur, wie dies ja bekanntlich bei den Kieselschalen der Diatomeen ganz besonders schön zu sehen ist. Man behandelt solche Skelette zunächst mit Salz- und Salpetersäure, wäscht mit Wasser und prüft schließlich auf Löslichkeit in Flußsäure und nach der Reaktion 1.

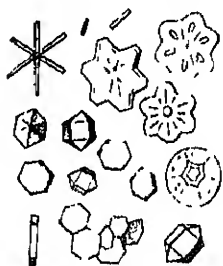


Fig. 29.  
Kristalle von Natriumfluosilikat. Vergr. 285.

Es fällt sehr häufig, namentlich bei stark verkieselten Objekten, schwer, vollständig weiße Aschenpräparate zu erhalten, da die letzten Reste von Kohle nicht verbrennen und den Präparaten ein schwärzliches, kohliges Aussehen verleihen. Ein anderer Übelstand besteht darin, daß beim Glühen eines nicht sehr kieselsäurereichen Präparates die Kieselsäure mit den Alkalien bei stärkerem Glühen zusammensintert, viele Details der Gewebestruktur verloren gehen und man anstatt eines eleganten Kieselskelettes eine sandige und glasige Asche erhält. Um diesem Übelstande ganz oder wenigstens teilweise zu steuern, empfiehlt es sich nach SACHS, die Präparate vor dem Veraschen mit einem Tropfen konzentrierter Schwefelsäure zu behandeln und dann bis zum Weißwerden der Asche zu glühen. Ist in den Objekten zu wenig Kieselsäure vorhanden oder sind ihr gewisse andere Stoffe, z. B. Chloride oder Alkalien, beigemengt, so können die Kieselskelette auch bei dieser Methode mißlingen. Die besten Resultate erhält man, indem man die Objekte oder Schnitte mit Salz- oder Salpetersäure ansauert oder in SCHULZESCHER Mischung bis zur Entfärbung kocht, dann die verwendeten Substanzen mit Wasser und Alkohol auswäscht und schließlich glüht. Kieselskelette lösen sich, wenn sie vorher noch mit Salz- oder Salpetersäure behandelt wurden, in Flußsäure fast ganz auf.

3. Kieselskelette mit Chrom-Schwefelsäure. Nach MILLARAKIS (1) werden die Gewebeschnitte zunächst in konzentrierter Schwefelsäure im Becherglase verkohlt, bis sie vollständig geschwärzt sind, und dann 20% Chromsäurelösung hinzugefügt. Nach längerer Zeit wird die organische Substanz vollends zerstört und von der anorganischen bleibt nur die Kieselsäure in Form meist schöner Kieselskelette zurück, die dann in Flußsäure auf ihre Löslichkeit geprüft werden können. Von den organischen Substanzen halten sich die verkorkten Membranen und die Kutikula am längsten, schließlich werden aber auch sie zerstört.

Auch das auf p. 73 erwähnte und zum Nachweis der Kohle benutzte Chromsäure-Schwefelsäure-Gemisch leistet bei der Herstellung von Kieselskeletten ausgezeichnete Dienste und wurde zu diesem Zwecke schon von CRUGER (1, 284) verwendet. Die Kieselskelette können dann in Wasser übertragen, hier ausgewaschen, durch Dekantieren gesammelt und dann weiter untersucht werden. Das Gelingen der Darstellung von Kieselskeletten durch Glühen oder durch Chrom-Schwefelsäure setzt natürlich eine gewisse Menge von Kieselsäure in der Membran bzw. im Inhalt der Zelle voraus; wenn aber der Kieselsäuregehalt unter eine gewisse Grenze sinkt, kann natürlich nach der Zerstörung der organischen Substanz keine geschlossene Kieselhaut mehr erhalten werden und man bleibt dann auf den Nachweis der Kieselsäure als Natriumfluosilikat angewiesen.

4. Mit Farbstoffen. Um amorphe gelatinöse Kieselsäure, die bei der Zersetzung vieler Silikate durch Säuren abgeschieden wird, nachzuweisen, bedient man sich bekanntlich auch einer Fuchsinlösung. Die zu behandelnden Splitter oder Ascheteilchen werden nach HAUSHOFER (1, 121) auf dem Objektträger mit einem Tropfen Salzsäure erwärmt, diese abgegossen, das Objekt im Wasser samt dem Objektträger ausgewaschen, dann mit Fuchsinlösung benetzt und schließlich wieder ausgewaschen. Die Kieselsäure hat die Eigenschaft, den Farbstoff mit

großer Kraft festzuhalten. BEHRENS (I, 96) hat auf die Unzuverlässigkeit dieser Probe mit Recht hingewiesen und empfiehlt an Stelle des Fuchsins Malachitgrün. Der Botaniker wird nach meinen Erfahrungen nicht viel mit diesen Farbstoffen anfangen können, da sie häufig nur von den Begleitstoffen der verkieselten Membranen absorbiert und von der Kieselsäure gar nicht oder nur sehr wenig aufgenommen werden. Lebende Pinnularien nehmen in ihrer Membran bald viel, bald wenig Farbstoff auf, aber es ist die Frage, ob gerade die Kieselsäure den Farbstoff speichert oder ausschließlich speichert, weil Kieselgur, die wesentlich aus den Kieselshalen von fossilen Diatomeen besteht, von Malachitgrün nichts oder nur wenig absorbiert. Man kann also nicht in der Asche durch Malachitgrün Kieselkörper ausfindig machen, geschweige denn in einem Gewebe, da dieser Farbstoff hier die meisten Wände, gleichgültig ob verkieselt oder nicht, und auch Kern und Plasma färbt.

5. Die Aufhellungsmethode. KÜSTER (I) hat vorgeschlagen, die verkieselten Gewebe mit Phenol aufzuhellen und hierdurch die Verkieselung, sei es der Membran, sei es des Zellinhalts, zur Anschauung zu bringen. Während die unverkieselten Membranen fast bis zur Unkenntlichkeit aus dem mikroskopischen Bilde verschwinden, bleiben die für Phenol undurchlässigen Kristalle, Drusen, die Kieselkörper und verkieselten Membranen sehr deutlich sichtbar und namentlich die beiden letzteren fallen durch einen eigenartigen rötlichen oder bläulichen Glanz auf. KÜSTER verfährt so: „Etwa eine Messerspitze kristallisiertes Phenol wird über das Präparat geschüttet und über ihn geschmolzen. Die Flüssigkeit wird dann entfernt und durch Nelkenöl ersetzt, aus welchen dann das Präparat nötigenfalls unmittelbar in Kanadabalsam übergeführt werden kann.“ Um die Verteilung von Kieselkörpern innerhalb der Gewebe auf größeren Arealen mikroskopisch zu überschauen, wird man sich der Aufhellungsmethode nebenher mit Vorteil bedienen können. Sie leistet beim Suchen nach Verkieselungen im Gewebe vortreffliche Dienste, weil der eigenartige rötliche Glanz oft ganz lokale, auf winzige Pünktchen beschränkte Verkieselung andeutet und zur weiteren Prüfung ermuntert.

NAUMANN (I) empfiehlt als Ersatzmittel für Phenol Eugenol

#### Vorkommen.

Die Kieselsäure ist, obwohl sie, abgesehen von den Diatomeen (RICHTER III) kein notwendiger Bestandteil der Pflanzennahrung ist, im Pflanzenreiche weit verbreitet. Spuren davon dürften wohl in den meisten Zellen vorhanden sein. Viele Pflanzen haben — ich verweise bezüglich des Vorkommens der Kieselsäure in der Pflanze auf die ausführliche Zusammenstellung bei KOHL (I) — im besonderen Grade das Vermögen, Kieselsäure zu speichern: Die Diatomeen, Equisetaceen, gewisse Farne, die Gramineen, Cyperaceen, Ericaceen, Podostemonaceen, viele Orchideen, Musaceen, Marantaceen, Aristolochiaceen, Chrysobalanaceen, von Bäumen Alnus, Betula, Ulmus, Fraxinus, Quercus, viele Coniferen und Palmen. Die Kieselsäure wird abgeschieden 1. auf der Pflanze bzw. Pflanzenzelle, 2. in der Membran und 3. im Zellinnern.

1. Auf der Membran wird Kieselsäure in größerer Menge nur selten abgesondert und wenn, dann gewöhnlich vermischt mit anderen

organischen und anorganischen Substanzen. Die bei manchen Palmenblättern (*Chamaedorea*-Arten) und bei *Kerria*-Arten vorkommenden Wachsauflagerungen enthalten nach KOHL (I, 229) Kieselsäure beigemischt, die meisten Schüppchen auf den Blättern von *Saxifraga*-Arten, *Plumbagineen* und gewissen Farnen (*Polypodium*-Arten) bestehen aus Mischungen von Kalk-, Magnesia- und Natronsalzen mit geringen Mengen von Kieselsäure. Auch die riesigen, milchweißen Kieselsäurekonkremente, die sich dann und wann im Stengel tropischer *Bambusa*-Arten auf den Diaphragmen vorfinden und unter dem Namen *Tabaschir* (COHN II) im Orient seit altersher als Heilmittel geschätzt werden, gehören hierher <sup>1)</sup>.

Ferner wären hier auch die interzellularen Kieselsäureanhäufungen anzuführen, die CRÜGER (I) in der Canto-(*Moquilea*-)Rinde beobachtet hat.

2. In der Membran kommt Kieselsäure sehr häufig vor und nicht selten in so großer Menge, daß man mehr oder weniger gute Kieselskelette erhält. In erster Linie sind hier als klassische Beispiele zu nennen: die Diatomeen, *Equisetaceen*, *Gramineen* und *Cyperaceen*. Ferner die Blätter vieler Gehölze: *Ulmus campestris*, *Celtis australis*, *Ficus Sycomorus*, *Deutzia scabra*, *Magnolia grandiflora*, *Combretum argenteum*, *Petraca*-Arten und viele andere. Von diesen Pflanzen erhält man oft ganze Epidermistücke als Kieselskelette und diese zeigen, daß außer der Außenwand der Oberhautzellen auch deren Seitenwände mehr oder minder verkieselt sind. Bei glatten Epidermen ist eine mehr gleiche Verkieselung zu beobachten, wenn aber Knötchen oder vorspringende Leisten vorhanden sind, so erreicht die Verkieselung hier einen höheren Grad. Eigenartige verkieselte Membranverfaltungen hat ZIMMERMANN (II, 306) im Blatte von *Cyperus alternifolius* entdeckt. Trichome erscheinen oft verkieselt. Entweder wird die Verkieselung auf die Haare beschränkt (*Urtica dioica*, *Campanula Cervicaria* usw.) oder die Haare bilden Zentren der Verkieselung, von denen die Verkieselung der Epidermis ausgeht, so bei *Deutzia scabra*, *Rubia tinctorum*, *Galium Aparine*, *Parietaria erecta*, *Elymus arenarius* usw. Oder jedes Haar ist von einer verkieselten, aus Oberhautzellen bestehenden

1) Gelegentlich meines Aufenthaltes auf Java hatte ich mich auch dafür interessiert, zu ermitteln, ob bei den tropischen *Bambusa*-Arten das Auftreten des *Tabaschirs* etwas Normales oder etwas Pathologisches sei. Ich habe viele Stämme in verschiedenem Alter untersucht, aber *Tabaschir* im allgemeinen selten gefunden. In den meisten Fällen waren gerade diejenigen Stämme, die *Tabaschir* fuhlen, in den betreffenden Internodien, sei es durch eine Sprengung des Stammgewebes, sei es durch einen Larvengang eines Insektes verwundet. Da ich bei anderen Pflanzen (*Acer*, *Ulmus* usw., vgl. p. 53) im Wundholz oft eine hochgradige Verkalkung beobachtet habe, kam ich auf die Idee, daß die Abscheidung von *Tabaschir* möglicherweise auch etwas Pathologisches sein könnte und machte daher zahlreiche Versuche  $\frac{1}{2}$ —1 m hohe, wachsende *Bambusa*-Schößlinge wurden derartig verletzt, daß in einzelnen Internodien je ein Stach mit der großen Klinge eines Federmessers (die Fläche desselben vertikalradikal gedacht) in das Internodium senkrecht zur Längsachse bis zur Markhöhle gemacht wurde. Nach etwa 5 Wochen zeigten die Stämme in der Regel nur in den verletzten Internodien auf den Diaphragmen oder in der Nähe der Wunde *Tabaschir*. *Bambusa* hat einen großen Blutungsdruck; wenn also eine Verwundung des Stammgewebes, sei es auf natürlichem oder künstlichem Wege auftritt, so wird sich hier kieselstureiches Blutungswasser in der Nachbarschaft der Wunde und auf dem Diaphragma ansammeln und beim Verdunsten Kieselsäure, d. h. *Tabaschir*, zurücklassen. Ich habe so die Überzeugung gewonnen, daß *Tabaschir* zwar auch normal, in der Regel aber als Folge einer Verwundung abgeschieden wird.

Scheibe umgeben (viele Boragineen, Cucurbitaceen, Compositen und andere).

Die eigenartigen Brennhaare von *Urtica*, *Laportea* und *Loasa* verdanken ihre außerordentliche Sprödigkeit und Zerbrechlichkeit einer Mineralisierung der Membran durch Kieselsäure oder durch kohlensauren Kalk oder durch beide. Sie werden hierdurch ihrer Aufgabe, als Schutzwaffe zu dienen, gerecht. Sie gleichen feinen Glaskapillaren und erscheinen infolge ihrer Zerbrechlichkeit so recht geeignet, Verwundungen hervorzurufen. Bei *Urtica dioica* und *Urtica urens* sind die Wandungen des Haarköpfchens und der daran grenzenden Teile in ihrer ganzen Dicke verkieselt, die übrigen Teile sind bis zum Bulbus des Haares mit kohlensaurem Kalk imprägniert (HABERLANDT I). Bei *Loasa papaverifolia* und anderen Loaseen erhalten die Brennhaare ihre Sprödigkeit nur zum sehr geringen Teile durch Kieselsäure, sondern hauptsächlich durch Verkalkung und bei *Jatropha* durch Verholzung.

NETOLITZKI (I und II) hat in neuester Zeit die weite Verbreitung der Verkieselung in Blättern bei vielen Rubiaceen, insbesondere bei *Rubia*, *Galium*, *Sherardia*, *Crucianella* und *Asperula* und bei vielen anderen Dicotylen dargetan<sup>1)</sup>.

Bei vielen Blättern erscheint die Verkieselung der Membran auf die Epidermis beschränkt, bei anderen auf die Epidermis und die Gefäßbündel und bei vielen erstreckt sie sich auf alle drei Gewebesysteme, also auch auf das Mesophyll.

Die Cystolithen, die der Hauptsache nach mit kohlensaurem Kalk inkustriert sind, lagern nicht selten besonders in ihren Stielen Kieselsäure ein. Die Verkieselung kann sich aber auch auf den Kopf der Cystolithen erstrecken, ja die von *Ficus Sycomorus* sollen nach KOHL (I, 237) ganz aus Kieselsäure bestehen.

HEINRICHER (I) beobachtete bei *Campanula persicifolia* und anderen Arten eigenartige Zellhautpfropfen, die etwa in der Mitte der Außenwände der Oberhautzellen auftreten. Sie springen entweder in das Lumen der Zellen vor oder sie erscheinen durch Differenzierung ihrer Substanz scharf gekennzeichnet und nehmen sich wie in die Zellwand eingesetzte Stüpsel aus. Nach außen entsprechen sie kleinen Höckern und sind stark verkieselt.

Hierher gehören auch die von K. LINSBAUER (I, 328) in der Epidermis der meisten Bromeliaceenblätter entdeckten kleinen runden Kieselkörper, die zum großen Teil in der Wand der Oberhautzellen eingesenkt sind.

Im Zellinnern des Rindenparenchyms der *Chrysobalanee* *Moquilea* (el Cauto-Rinde) fand CRÜGER (I) Ablagerungen amorpher Kieselsäure, die geschichtet, doppelbrechend und opalisierend sind und ähnlich wie der kohlensaure Kalk im Kern- und Windholz (MOLISEH VIII)

1) Die eigenartigen blasenförmigen Haare an den Blättern von *Roechia salcata* sollen nach v. KERNER (I) — und derselben Ansicht ist auch KOHL (I, 235) — beim Veraschen ausgezeichnete Kieselsteinkolotto zurücklassen. v. KERNER vergleicht sie geradezu mit Glasgefäßen. Dies ist nach meinen Beobachtungen ein Irrtum. Daß man beim Glühen der *Roechia*-Epidermis ein schönes Aschenskelett von den blasenförmigen Zellen erhält, ist richtig, nur besteht es nicht aus Kieselsäure, sondern aus kohlensaurem Kalk. Auf Zusatz von Salzsäure verschwindet es momentan unter Aufbrausen.

die Zellumina bis in die Tüpfelkanäle hinein ausfüllen und so Abgüsse der Zellumina darstellen.

Auch v. MOHL (I, 230) fand Kieselsäure in Form von Körnern oder einer die ganze Zelle erfüllenden Masse in den Blättern verschiedener Pflanzen aus den Familien der Chrysobalanaceen, Dilleniaceen und Magnoliaceen.

**Stegmata oder Deckzellen.** Ziemlich weite Verbreitung genießen die mit Kieselkörpern erfüllten, von METTENIUS als Deckzellen oder Stigmata beschriebenen Gewebeelemente. Sie kommen vor bei Trichomanes-Arten, vielen Palmen, Orchideen und Scitamineen exklusive Zingiberaceen und begleiten hier in großer Zahl die Baststränge. Es sind kleine parenchymatische Zellen, die bei den Palmen die Form einer

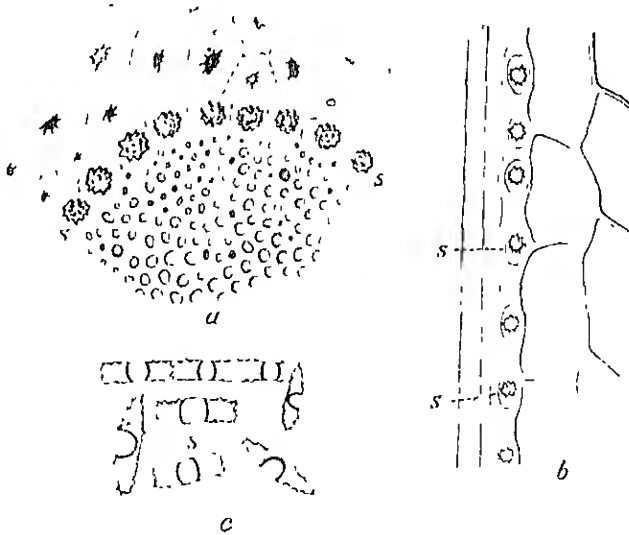


Fig. 30.

Stegmata oder Deckzellen.

- a* Stück eines Querschnitts vom Endokarp der *Cocos nucifera*. *s* Stegmata mit Kieselkörpern, im Bogen die Bastzellen umhüllend. Vergr. 300.  
*b* Stück eines Längsschnittes durch den Blattstiel von *Phoenix* sp. *s* Stegmata mit runden Kieselkörpern. Vergr. 400.  
*c* Isolierte Kieselkörper aus den Stegmata von *Calathea Seemannii*. Vergr. 300.

Kugel oder bikonvexen Linse haben. Die Wand ist, soweit sie der Bastfaser zugekehrt ist, dick, im übrigen aber dünn. Die Stegmata der Palmen enthalten kegelförmige, hütchen- oder scheibenartige Kieselkörper, die meist eine warzige Oberfläche aufweisen. Eine sehr merkwürdige Form von Stegmata-Kieselkörpern fand MOLITSCH (XIII) bei der Marantacee *Calathea Seemannii*. Die Deckzellen liegen auch hier den Bastzellen an und erscheinen bei bestimmter Lage auf Längsschnitten in Form eines niedrigen Trapezes, das in der Mitte seiner Basis einen halbkreisförmigen Ausschnitt besitzt. Dieser entspricht, räumlich genommen, einer halbkugelförmigen Aushöhlung. Die Deckzellen sind mit Kieselsäure vollständig ausgefüllt (Fig. 30). Bei den Pandaneen führen die Deckzellen anstatt der Kieselsäure oxalsauren Kalk.

**Podostemonaceae.** Bei dieser merkwürdigen, dem raschfließenden Wasser angepassten Phanerogamenfamilie hat CAURO (I) im Gewebe von *Tristicha hypnoides* Spreng. Kieselkörper nachgewiesen. Sie finden sich sowohl in den Epidermiszellen der Oberseite als auch in den subepidermalen Zellen des „Thallus“ vor. Auf Längsschnitten schließen sie in Längsreihen aneinander und bilden bolzenförmige kompakte Massen, die häufig genaue Abgüsse des Zellumens darstellen. Die Kieselkörper der Blätter unterscheiden sich nur in der Form von denen des „Thallus“ und bilden vielzackige Sterne, halbmondförmige, dreieckige oder langgestreckte Massen. WARMING (I) erblickt in den Kieselkörpern eine Einrichtung, die es den Pflanzen ermöglicht, der reißenden und korrodierenden Wirkung des Wassers zu widerstehen.

KORR. (9, 257) hat eine Reihe anderer Podostemonaceen untersucht und die Kieselkörper innerhalb dieser Familie weit verbreitet vorgelunden: bei Podostemon-Arten, *Terniola longipes*, *Mniopsis*-Arten und *Mourera aspera*.

**Phytelephas.** Ein höchst auffallendes Vorkommen von Kieselsäure im Zellumen hat MORISON (XII) im Endokarp von *Phytelephas microcarpa* und *Ph. macrocarpa* beobachtet. Die kaum 1 mm dicke Steinschale ist außerordentlich hart und spröde. Sie läßt sich schwer schneiden, aber leicht brechen. Auf der Bruchfläche fällt eine schwarze, im auffallenden Lichte spiegelnde und zur Oberfläche der Schale senkrecht gestreifte Schichte auf, die die Hauptmasse des Endokarps ausmacht. Sie besteht ganz aus palisadenartigen, schwarzbraunen Zellen von etwa  $\frac{1}{2}$  mm Länge, deren Lumen mit Kieselsäure gewöhnlich total erfüllt ist (Fig. 31). Das Lumen

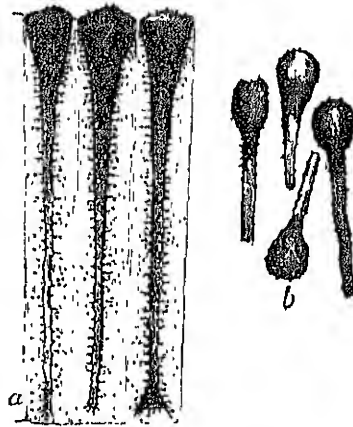


Fig. 31.

Kieselzellen aus dem Endokarp der Steinnuß (*Phytelephas*). Vergr. 105.

a 3 palisadenförmige Kieselzellen; ihr trichterförmiges Lumen samt den Porenkanälen mit Kieselsäure ausgefüllt. Nach einem Präparat in Kanadabalsam. b 4 solche Zellen verengt, die Kieselmassen bleiben, etwas zusammengedrückt, zurück.

öffnet sich nach oben breit trichterförmig, nach unten wird es schmal, ganz unten zumeist wieder etwas breiter. Vom Lumen strahlen nach allen Richtungen gegen die Oberfläche der Zellwand zu zahlreiche feine Porenkanäle aus, so daß diese ganz porös erscheint. Das ganze Lumen der Palisadenzellen ist ausgefüllt mit einer farblosen Masse von den Eigenschaften der Kieselsäure. Die Asche der Schale kurscht beim Zerreiben wie Sand und besteht der Hauptmasse nach aus den zurückbleibenden Kieselkörpern, die den Hohlraum der Prismenzellen auf das genaueste wiedergeben, ja sogar durch zahlreiche, zapfenartige Fortsätze die Porenkanäle andeuten.

**Angiopteris.** Außerdem möchte ich auf ein bisher übersehenes Auftreten von Kieselkörpern bei den Blättern von *Angiopteris evecta* Hoffm. aufmerksam machen. In der unteren Epidermis der Blattsiedern

dieses Farnkrautes finden sich zahlreiche Zellen, die fast vollständig mit je einer runden Kieselmasse erfüllt sind (Fig 32). Sie haben eine rauhe Oberfläche, erscheinen bei scharfer Einstellung außerordentlich fein porös und enthalten häufig einen kugelfunden, scharf umgrenzten Kieselkern, der sich wie ein Zellkern im Plasma ausnimmt.

*Callisia*, *Loranthus* usw. Schließlich sei noch auf die von MÖBIUS (I) beobachteten Kieselkörper hingewiesen, die in den Laubblättern von *Callisia repens* auftreten und auf die von MOLISCH (XXII) entdeckten Kieselkörper in der Oberhaut des Laubblattes und des Stengels der *Campelia Zanonia*. Die Verteilung und das Auftreten dieser Körper entsprechen denen der eben erwähnten, von MÖBIUS bei der Commelinee *Callisia* beobachteten und geben zu erkennen, daß die Verwandtschaft der Pflanze nicht bloß durch einen bestimmten Chemismus, sondern auch durch eine ganz eigenartige Lokalisation zum Ausdruck kommen kann. Ferner sei aufmerksam gemacht auf die Kieselzellen, die kugelige Körper in der Nähe des Blattrandes und der Blattspitze von *Loranthus europaeus* bilden (KOLPIN RAVE I), auf die Zellgruppen mit verkieselten Membranen bei *Aristolochia*-Arten, die Zellausfüllungen mit Kieselsäure bei den verwandten Gattungen *Thottea* und *Apama* (SOLEREDER I, 771) und auf die allgemeine Verbreitung von verschieden gestalteten Kieselkörpern in den Kieselkurzzellen der Epidermis der Gramineen, die GROB (I) nachgewiesen hat und die bei *Arundo donax* eine auffallende Größe erreichen (MOLISCH XXII).

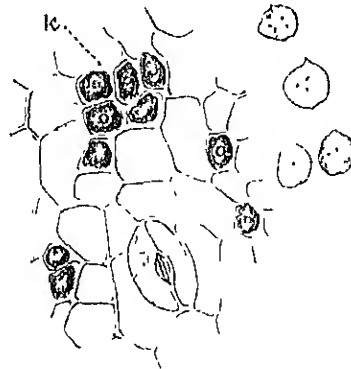


Fig 32.

Epidermis der Blattunterseite von *Angiopterus evectum* mit Kieselkörpern 4 Vergr 300 Rechts 4 isolierte Kieselkörper Vergr 400

In welcher Form das Silicium in der Pflanze auftritt, ob in organischer oder in anorganischer Bindung, ist derzeit mit Sicherheit nicht bekannt. LADENBURG (I) und LANGE (I) haben sich mit dieser Frage beschäftigt. Jener meint, daß das Silicium in Form organischer Verbindungen in der Pflanze vorkommt, ohne aber experimentelle Beweise für diese Ansicht zu bringen. Dieser legte sich unter anderem die Frage vor, welche bestimmte Siliciumverbindung sich im Saftte vorfindet und kommt auf Grund von Versuchen mit dem Saftte von *Equisetum hiemale* zu dem Ergebnis, daß das Silicium in keiner anderen Form als der einer sehr verdünnten Kieselsäurehydratlösung vorhanden sein könne, als welche es auch in die Pflanze, nach LANGE, eintritt.

Jüngst wurde von O. RICHTER (II, 1337) in einwandfreier Weise der Beweis geliefert, daß gewisse Diatomeen sowohl Silicium als auch Natrium zu ihrer vollständigen Entwicklung benötigen, und er neigt zur Ansicht, daß beide Elemente an dem Aufbau der Kieselschale der Meeresdiatomeen beteiligt sind. Ein direkter Beweis für diese Annahme fehlt gegenwärtig noch, wie denn überhaupt die ganze Frage nach der Natur der Siliciumverbindungen in der Pflanze einer erneuten Untersuchung bedarf.



## 5. Chlor.

## Nachweis.

1. Mit Thalliosulfat. Eine wässrige Lösung (2—4%) dieses Salzes bewirkt mit Chloriden sofort oder beim Verdunsten einen kristallinen Niederschlag von löslichem Thallochlorid  $\text{TlCl}$ . Die tesseralen Kristalle erscheinen in Würfeln, Oktaedern, auch kombiniert mit den Flächen des Rhombendodekaeders und in kreuzförmigen Rosetten (Fig. 33). Sie sind im auffallenden Lichte weiß, im durchfallenden fast ganz schwarz. Ist man im Zweifel, ob man wirklich Thallium-Kristalle vor sich hat, prüfe man nach BORODINS Verfahren in einer gesättigten Lösung von Thalliumchlorid, worin sich natürlich Kristalle dieser Verbindung nicht auflösen. Bei der Ausführung der Reaktion bedecke man den Tropfen nicht mit einem Deckglas. Schnitte, die relativ reich an Chloriden sind, wie die von Strandpflanzen oder Blattstiele von *Primula obconica* geben die Kristalle sofort, chloridarme Schnitte erst beim Verdunsten des Reagens.

2. Mit Thalloacetat. JUNG (I) gibt diesem Salze den Vorzug vor dem Thalliosulfat und verwendet eine Lösung von Thalloacetat 0,5 g, Glycerin 2 g, dest. Wasser 7,5 g.

3. Mit salpetersaurem Silber erhält man bei Gegenwart von Chlorionen einen weißen, amorphen Niederschlag, mit dem mikrochemisch nicht viel anzufangen ist. Er kann aber leicht kristallisiert erhalten werden,



Fig. 33.  
Kristalle von Thallochlorid.  
Vergr. 400.

wenn man nicht zu viel Ammoniak zusetzt und dann verdunsten läßt (HAUSHOFFER I, 117). Dabei entstehen kleine tesserale, stark lichtbrechende Kristalle von  $\text{AgCl}$  in Form des Hexaeders, Oktaeders oder der

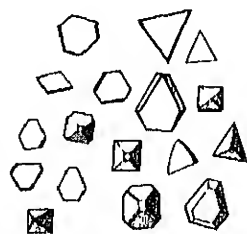


Fig. 34.  
Kristalle von Silberchlorid. Vergr. 400

Kombinationen beider, seltener mit den Flächen des

Rhombendodekaeders (s. Fig. 34).

Schnitte vieler Pflanzen, namentlich der halophilen Strandpflanzen und verwandter dieser geben meist schon einen makroskopisch sichtbaren amorphen Niederschlag. Nach Zusatz von Ammoniak erscheinen im unbedeckten Tropfen alsbald die Kristalle von Chlorsilber. Sie färben sich unter dem Einfluß des Lichtes allmählich, unter dem der Pflanzensaft oft sehr rasch violett. Sie lösen sich leicht in Ammoniak, Cyankalium, unterschwefligsaurem Natrium und einer konzentrierten Lösung von salpetersaurem Quecksilberoxyd.

JUNG (I) empfiehlt eine 1proz. Lösung von Silbernitrat in einer 10proz. Ammoniak-Lösung. Bei sehr geringem Chlorgehalt eine solche von  $\frac{1}{2}$ proz. Silbernitratlösung in 10% Ammoniak, um größere Kristalle zu erzielen. Man legt den Schnitt in den Reagenstropfen und läßt

das  $\text{NH}_3$  an der Luft möglichst ruhig verdampfen. Nach 1—2 Minuten bilden sich mitunter recht große  $\text{AgCl}$ -Kristalle an der Oberfläche des Tropfens: Würfel, Oktaeder, kreuzförmige oder ordensternartige Drusen. Ungemein charakteristisch für sie ist, daß sie sich alsbald blau, violett bis schwarz färben.

Die Kristalle lassen sich nach BRUNSWIK (II) beim Umkristallisieren in Ammoniak mit Methylenblau, Eosin, wässerigem Kongorot und Bismarckbraun während ihrer Entstehung echt färben. Setzt man dem Silbernitratreagens von JUNG gleich etwas Methylenblau hinzu, so erhält man die blaugefärbten Kristalle auch auf dem Pflanzenschnitt (Begonia, Primula). Gerbstoffe stören leider.

4. Mit salpetersaurem Silber in Gegenwart von Salpetersäure und nachträglicher Exposition im Lichte. Das Silbernitrat wurde in der tierischen Histologie seit langem als morphologisches Reagens verwendet, weil nach Imprägnierung der Gewebe mit diesem Salze und nach der Einwirkung des Lichtes häufig eine Reduktion des Silbersalzes eintritt und durch das auftretende metallische Silber die Zellgrenzen und andere histologische Details sehr deutlich werden. Als chemisches Reagens wird das Silbernitrat in Verbindung mit Salpetersäure und Licht zum Nachweis von Chloriden erst seit kurzem gebraucht.

MACALLUM (V, I, 620) bezeichnet das Silbernitrat in Gegenwart von Salpetersäure als ein außerordentlich zuverlässiges Reagens für Chloride, indem es Silberchlorid bildet, das unter der Einwirkung von Licht zu Subchlorid,  $\text{Ag}_2\text{Cl}$ , wird. Mit Hilfe dieses Reagens, das aus  $\frac{1}{10}$  normaler Silbernitratlösung und 1,5% Salpetersäure bestand, konnte der genannte Forscher zeigen, daß die Kerne der tierischen und pflanzlichen Zellen in ihrem normalen Zustand frei von Chloriden sind, während das Cytoplasma gewöhnlich Chloride enthält. Die Chromatophoren von Tulipa, Spirogyra und Zygnema gaben keine Chloridreaktion.

5. Direkter Nachweis des Chlorkalium und Chlornatrium. SCHIMPER (I, 213) meint  $\text{ClK}$  und  $\text{ClNa}$  in der Pflanzenasche auch direkt nachweisen zu können. Gibt man auf Pflanzenasche ein Tröpfchen Wasser und läßt entrocknen, so entstehen beim Verdunsten häufig farblose Würfel, deren Natur durch Platinchlorid, Thalliumsulfat und Uranylacetat nach SCHIMPER aufgedeckt werden kann. In Wirklichkeit ist die Sache aber nicht so einfach, wie sie auf den ersten Blick erscheint, da die Erkennungsform des Natriums, Kaliums und des Chlors nicht an Ort und Stelle des zu prüfenden Kristalls, sondern oft recht weit entfernt davon entsteht.

#### Vorkommen.

Das Chlor ist im Pflanzenreiche weit, vielleicht in Spuren allgemein verbreitet. Die am Meeresstrande wachsenden Phanerogamen speichern es in großen Mengen und auch die damit verwandten Landpflanzen zeigen eine große Vorliebe für Chlor. SCHIMPER (I, 225) beobachtete, daß Holzgewächse, die gewöhnlich am Strande leben und hier Chloride speichern, auch auf gewöhnlichem Boden sehr chlorbegierig bleiben. Dieselbe Eigenschaft fand er auch häufig bei Holzgewächsen, die unter natürlichen Bedingungen nicht als Halophyten wachsen, aber mit diesen verwandt sind. So bei Hibiscus Lampas, Abutilon atropurpureum, Clematis tubulata, Tern-

*nalina bicolor*, *Sapium*-Arten und vielen anderen *Euphorbiaceen*. Das Chlor ist nach SCHIMMER bei den Strandpflanzen meist in Form von Chloratrium, an weniger chlorreichen Orten in Form von Chlorkalium, und zwar vorwiegend in den Blättern vorhanden.

Der Gehalt des Milchsafte an Chloriden wurde von MORISCH (VI, 51) geprüft und stellte sich als recht verschieden heraus. Viel Chloride enthielt der Milchsaft von *Brosimum microcarpum* Schott, *Centropogon Lucianii*, *Euphorbia*-Arten, *Hemalanthus populneus* Pax, *Hoja rotundifolia*, *Jatropha podagrica* Hook., *Nerium Olander* L., *Pedilanthus tithymaloides* Poit., wenig enthielt er bei *Alocasia violacea* hort., *Campanula medium* L., *Ipomoea purpurea*, *Papaver orientale*, *Sonchus* sp. und keine nachweisbaren Mengen bei *Chelidonium majus*, *Ficus elastica* hort. und *Morus* sp.

Manche Halophyten, z. B. Arten von *Statice*, *Tamarix* und *Frankenia* scheiden an der Oberfläche ihrer Blätter Salzkrusten aus, die nach SCHTSCHELBACH (I) hauptsächlich aus Chloriden und Sulfaten von K, Na und Mg bestehen.

Durch die jüngst erschienene Arbeit von JUNG (I) sind wir über die Verbreitung des Chlors recht gut unterrichtet. Er hat die verschiedensten Pflanzen von den niedrigsten Gewächsen bis zu den höchsten, im ganzen 604 Arten aus 389 Gattungen und 137 Familien, untersucht.

Es gibt chlorliebende und chlorfeindliche Familien, doch können innerhalb einer Familie diesbezüglich Verschiedenheiten obwalten. Chlorhold sind, die *Equisetaceen*, *Cannabaceen*, *Ulmaceen*, *Urticaceen*, *Euphorbiaceen*, *Polygonaceen*, *Chenopodiaceen*, *Amarantaceen*, *Crucifereen*, *Tamaricaceen*, *Malvaceen*, *Umbellifereen*, *Primulaceen*, *Compositen*, *Liliaceen* und *Iridaceen*.

Chlorfeindlich sind dagegen: die *Cyanophyceen* und *Chlorophyceen* des süßen Wassers, die Flechten, Moose, Bärlappe, ferner Nadelhölzer, *Betulaceen*, *Salicaceen*, *Rosaceen*, *Ericaceen* und *Orchideen*.

Was die Verteilung der Chloride innerhalb der Pflanze anbelangt, so läßt sich im Stengel immer eine Zunahme des Chlorgehaltes von der Wurzel zur Spitze feststellen. Die Hauptmenge befindet sich in den parenchymatischen, zellsaltreichen Geweben, und zwar gelöst im Zellsaft. Im Querschnitt liegt die Hauptmenge im Rinden- und Markparenchym, wenig oder gar kein Chlor in der Oberhaut und dem Stranggewebe.

Die bisher vorliegenden Versuche über die Ernährung höherer und niedriger Pflanzen haben im allgemeinen gelehrt, daß Chlor kein wesentliches Nahrungselement darstellt, daß es aber den Stoffwechsel mitunter günstig beeinflusst. In den Meerespflanzen spielt das Kochsalz zumeist (vgl. die Ausnahmen auf p. 65) die Rolle eines osmotischen Faktors und wahrscheinlich, wenigstens bei den Bakterien, nicht die einer Nährsubstanz, denn bei Ernährungsversuchen mit Leuchtbakterien konnte das  $\text{ClNa}$  auch durch Nichtechloride, so durch Kaliumnitrat, Jodkalium und Kaliumsulfat ersetzt werden (MORISCH XV, 89—90).

## 6. Jod.

### Nachweis.

1. Mit Stärkekleister. Bekanntlich färben sich Stärkekörner oder Stärkekleister mit Jod blau oder blaviolett. Sowie Spuren von Stärke sich mit Jod auffinden lassen, so auch umgekehrt Spuren von Jod durch Stärke. Das in vielen Meeresalgen vorkommende Jod kann in folgender Weise leicht nachgewiesen werden. Die sogenannten Quellstifte, die in der Apotheke erhältlich sind und die die getrockneten

„Stengel“ der Braunalge *Laminaria* darstellen, geben ein ausgezeichnetes Material für den Nachweis des Jod ab.

*a) Versuch.* Einige Schnitte durch den Stengel von *Laminaria* werden in einer Epruvette mit etwa 2 cm wässerigem 1% Kartoffelstärkekleister, mit 1—3 Tropfen einer 20proz. Kaliumnitridlösung und ebensoviel Tropfen einer verdünnten (5%) Salzsäure versetzt. Der Kleister färbt sich durch das in Freiheit gesetzte Jod sofort blau. Derselbe Versuch gelingt auch mit einem Schnitt unterm Mikroskop.

*β) Versuch.* TUNMANN (1) hat zuerst Jod mikrochemisch in folgender Weise nachgewiesen: Man bringt einen Laminariaschnitt auf den Objektträger in einen Tropfen Wasser, in den man etwas Weizenstärkekörner eingetragen hat, bedeckt mit dem Deckglas und läßt vom Rande 1—2 Tropfen konzentrierte Salpetersäure einwirken. Statt Salpetersäure kann auch Eisenchlorid verwendet werden, mit dem man das Präparat betupft. Durch beide Reagentien wird Jod freigemacht und die Stärke blau gefärbt. Nach dieser Methode konnte TUNMANN Jod in 1—2 mg der *Laminaria* (Droge) nachweisen. Das meiste Jod findet sich bei *Laminaria* im Mark und in der Rindenschicht, während die sogenannte „Mittelschicht“ jodärmer zu sein pflegt.

*γ) Versuch.* Ausgezeichnete Dienste leistet wie ich gefunden habe, auch folgendes Verfahren. In die Glaskammer (p. 65) werden ein bis mehrere Schnitte von *Laminaria* gegeben und mit 1—3 Tropfen konzentrierter Salzsäure versehen. Dann wird die Glaskammer sofort mit einem Deckgläschen bedeckt, an dessen Unterseite in der Mitte ein kleines Tröpfchen Stärkekleister oder ein Wassertröpfchen mit Kartoffelstärkekörnern hängt. Nach einigen Minuten färbt sich der Kleister blau und nach längerer Zeit tiefblau. Schon mit einem nur wenige Milligramm wiegenden Schnitt läßt sich das Jod nachweisen; auch mit konzentrierter Schwefelsäure gelingt das Experiment, allein die Blaufärbung hält bei Verwendung von Schwefelsäure nicht lange an.

Alle diese Versuche gelingen auch mit frischen Laminariastengeln.

Der Nachweis von Jod gelingt auch leicht mit der Asche von *Laminaria*. Ein Partikelchen davon wird mit einem Tropfen Stärkekleister versehen, ein Körnchen Kaliumnitrit und 1 Tropfen 10proz. Schwefelsäure hinzugefügt. Der Kleister färbt sich sofort blau.

2. Nachweis als Silberjodid  $\text{AgI}$  bzw. als Quecksilberjodid  $\text{HgI}_2$ . Wenn man Jod als Jodamylum nachweisen will, muß das Jod als Ion vorhanden sein. Das Jod kommt aber auch in Form komplexer, organischer Verbindungen vor, in der Jod nicht direkt nachgewiesen werden kann. Soll dies möglich werden, so muß das Jod aus dem Atomkomplex in das Ion übergeführt werden. Dies glaubt JUSTUS (1) durch Chlor in folgender Weise ausführen zu können. „Den Schnitten des im Alkohol fixierten und in Celloidin eingebetteten Organes wird in einer Schale Wassers ihr Alkohol vollständig entzogen. Hierauf überführt man selbe in ein kleines, mit gut passendem Glasstöpsel versehenes, weithalsiges Gefäß, in welches man etwa zwei Finger hoch destilliertes Wasser gibt. Sind die Schnitte übertragen, so gießt man das Wasser von demselben ab und gebe statt dessen etwa ebensoviel frisch bereitetes, grün gefärbtes Chlorwasser in das Gefäß. Die Schnitte bleiben 1—2 Minuten, doch allenfalls bis zu ihrer vollständigen Entfärbung der Einwirkung des Chlorwassers in fest verschlossenem Glase ausgesetzt. Hiernach werden sie mittels Glas- oder Platinnadel in eine diluierte Lösung von  $\text{AgNO}_3$

überführt. Hier werden die vom Chlor gebleichten Schnitte in kurzer Zeit blaßgelb, alsbald gelbgrün. Im Verlaufe von 2—3 Stunden erreicht die Farbe (vor Licht- einwirkung muß geschützt werden) ihre volle Intensität. In der Silberlösung selbst entsteht natürlich auch ein wolziger, weißer Niederschlag von  $\text{AgCl}$ .

Nach 2—3 Stunden werden die Schnitte in eine gesättigte, warme Lösung von Kochsalz gegeben. Da in derselben das  $\text{AgCl}$  löslich ist, heften sie alsbald auf und zeigen eine reine, schwach- bis kanariengelbe Farbe. Dies ist die Farbe des  $\text{AgJ}$  in sehr dünner Schicht. Werden die Schnitte aus der Kochsalzlösung nach vorgängigem Auswaschen mit destilliertem Wasser in konzentrierte (4—5%)  $\text{HgCl}_2$ -Lösung gebracht, so wandelt sich die Farbe in einigen Augenblicken ins Bläßgelbrote, Rosa und endlich in Zinnober, da das in ihnen enthaltene  $\text{AgJ}$  in gelbes, alsbald rot werdendes  $\text{Hg}_2\text{J}_2$  übergeht.“ Vorher hat man sich zu überzeugen, daß alle verwendeten Reagentien jodfrei sind. JUSTUS untersuchte Schnitte von fast sämtlichen Organen des Menschen und des Kindes, ferner zahlreiche niedere Organismen und Pflanzen und konnte überall in den Kernen Jod als einen normalen Bestandteil erkennen. Nach JUSTUS ist jeder Zellkern jodhaltig.

TUNMANN hat das Verfahren von JUSTUS auf Laminaria angewendet und glaubt mit großer Wahrscheinlichkeit festgestellt zu haben, daß das Jod hier im Zellinhalt vorkommt.

Bei der Lektüre der Arbeit von JUSTUS stiegen mir sofort Bedenken gegen die Resultate auf, denn sie erschienen mir nicht gut vereinbar mit der Tatsache, daß Pflanzen, Algen, Pilze, Phanerogamen, die in außerordentlich sorgfältig bereiteten jodfreien Nährlösungen gezogen wurden, üppig gediehen. Woher hätten sie das Jod hernehmen sollen, wenn das Jod ein normaler Bestandteil des Zellkerns sein soll? Wie berechtigt diese Bedenken waren, lehrt die Arbeit BABY'S (I), die auf meine Veranlassung die Nachprüfung der JUSTUS'schen Abhandlung mit Rücksicht auf die Pflanze übernahm und zu vollständig negativen Ergebnissen gelangte. In keinem einzigen Falle konnte Jod im Zellkern der Pflanzen nachgewiesen werden.

Andere Reaktionen, wie die von BEIRRENS (I) angegebene Fällung des Jod als Thallojodid, Palladojodid oder Kaliumjodoplatmat können sich nicht im entferntesten mit der Jodamylumprobe messen und sind daher für den Phytochemiker nicht zu empfehlen.

#### Vorkommen.

Nach BOURCER (I) und GAUTIER (I) gehört Jod zu den verbreitetsten Grundstoffen in der Natur. Es findet sich im Staub, im Regen, Schnee, dem Meer- und Süßwasser, in Pflanzen und Tieren. Spuren von Jod konnten auch in Süßwasser- algen und in Flechten, von BOURCER auch in manchen höheren Landpflanzen aufgefunden werden. Hauptsächlich kommt aber Jod neben Brom in Meeresalgen vor und aus diesen wird es ja auch im großen gewonnen. Insbesondere aus den Braunalgen: Laminaria, Fucus, Ecklonia, Sargassum und Arthrochaunus und anderen. GAUTIER (I) fand in Fucus und Laminaria 12 mg Jod auf 100 g frische Pflanzen und 60 mg auf 100 g trockene Pflanzen. Er fand auch in manchen Süßwasser- algen Jod vor, aber nur in sehr geringen Mengen (0,25 mg auf 100 g Trockensubstanz).

Ich habe gelegentlich eines 4 wöchentlichen Aufenthaltes in der biologischen Anstalt auf Helgoland eine große Reihe von Meeresalgen mikrochemisch auf Jod nach der Reaktion I untersucht und gebe hier die Resultate in einer Tabelle.

## Phaeophyceen.

Name der Alge	Ausfall der Reaktion	Reaktion trat ein
<i>Fucus serratus</i> . . . . .	+	im Stamm deutlich, aber nicht im Laub
„ <i>vesiculosus</i> . . . . .	—	
<i>Ascophyllum nodosum</i> . . .	+!	„ „ „ „ „ „
<i>Cladostephus vorticellatus</i> .	+!	
„ <i>spongiosus</i> . . . . .	+	
<i>Dosmarestia aculeata</i> . . .	-!!	„ „ „ und im Laub
<i>Laminaria digitata</i> . . . .	+!	sehr deutlich in den Rhizoiden, Stamm und Laub
„ <i>saccharina</i> . . . . .	+!	sehr deutlich in den Rhizoiden, Stamm und Laub
<i>Elachista fucicola</i> . . . . .	0	
<i>Sphacelaria radians</i> . . . .	0	
<i>Dictyota dichotoma</i> . . . .	0	
<i>Halydris siliquosa</i> . . . . .	+	im Stamme

## Rhodophyceen.

<i>Furcellaria</i> sp. . . . .	0
<i>Delesseria ulata</i> . . . . .	0
<i>Phyllophora rubens</i> (?) . . .	0
<i>Rhodomela sulfurea</i> . . . .	0
<i>Plocamium</i> sp. . . . .	0
<i>Polyides rotundus</i> . . . . .	0
<i>Corallina rubens</i> . . . . .	0
„ <i>officinalis</i> . . . . .	0
<i>Spermothamnion Tournori</i> .	0
<i>Porphyra laciniata</i> . . . .	0
<i>Plumaria elegans</i> . . . . .	+!
<i>Ceramium rubrum</i> . . . . .	0
<i>Calothamnion corymbosum</i> .	0
<i>Chondrus crispus</i> . . . . .	0
<i>Hildenbrandtia rosea</i> . . . .	0
<i>Baeria fuscopurpurea</i> . . .	0
<i>Chondria dasycphylla</i> . . .	0
<i>Gymnogongrus plicatus</i> . . .	0

! bedeutet intensive Reaktion

Wie aus der Tabelle hervorgeht, kann man bei Braunalgen sehr häufig Jod nachweisen, hingegen selten bei Rotalgen. Unter 13 Phaeophyceen war es bei 8 nachweisbar, am intensivsten fiel die Reaktion bei *Laminaria* und *Cladostephus* aus. Unter den geprüften Rhodophyceen gab nur *Plumaria elegans* die Reaktion, und zwar eine sehr intensive. Interessant ist, daß nur bestimmte Arten Jod speichern. Wenn auf demselben Stein *Cladostephus* neben *Polysiphonia atrorubens* und *Corallina officinalis* wachsen, so gibt nur die erste die Jodprobe!).

1) KOLKOWITZ (1), der sich bemüht hat, Stärke bei Rotalgen mit Jodchloralhydrat nachzuweisen, erwähnt die Beobachtung, daß bei manchen Rotalgen schon der bloße Chloralhydratzusatz ohne Jod genügt, um eine Färbung der Stärke hervorzurufen, und er glaubt, daß in diesem Falle das Jod von der Pflanze selbst geliefert wird. Wird die Alge *Spermothamnion Tournori* in Wasser erhitzt, so „verschwindet“ das Phycoerythrin aus den Zellen. „Setzt man jetzt Chloralhydratlösung ohne Jod hinzu, so färbt sich das Objekt schön purpurrot. Wahrscheinlich macht das Chloralhydrat aus irgendeiner Verbindung Jod frei und dieses veranlaßt dann die Färbung“ (p. 85). Diese Erklärung beruht meiner Meinung nach auf einem Irrtum. Beim Eintauchen in heißes Wasser verschwindet das Phycoerythrin

Ein höchst auffallendes Vorkommen von Jod beschreibt GOLENKIN (I) bei der im Golf von Neapel auftretenden Floridee *Bonnemaisonia asparagoides*. Wird die Alge auf ein mit Stärkekleister geleimtes Papier gelegt, so färbt es sich blau-violett. Diese Beobachtung wurde auch von ROBERTSON (I) gemacht. Unter dem Mikroskop konnte man sehen, daß die Färbung nicht vom gesamten Thallus, sondern nur von gewissen Punkten ausging, und zwar von besonderen Zellen, die vorzugsweise die jüngeren Teile und die Cystokarpion bedeckten. Diese Zellen führen je eine Vakuole mit sehr stark lichtbrechendem Inhalt und gerade diese Vakuolen enthalten nach GOLENKIN das Jod oder eine stärkefärbende Jodverbindung. Beim Übertragen der Alge in dest. Wasser platzen die Zellen, die Vakuolen werden frei und nur in ihrer Umgebung färbt sich die Stärke blau. Die chemische Natur des Vakuoleninhaltes konnte nicht aufgedeckt werden und auch aus der Tatsache, daß Cyanin den Vakuoleninhalt braun färbt, läßt sich kein bestimmter Schluß ziehen. So interessant GOLENKINs Beobachtungen an und für sich sind, so fordern sie doch zu neuen Untersuchungen der Alge heraus, denn von vornherein ist es doch höchst unwahrscheinlich, daß freies Jod<sup>1)</sup>, welches ein heftiges Zellgift ist, in der lebenden Zelle vorkommen sollte. Wenn wirklich Jod die Ursache der Kleisterfärbung sein sollte, dürfte es sich höchstwahrscheinlich um eine labile, leicht Jod abspaltende Verbindung handeln.

Dieser Ansicht hat sich jüngst KYLIN (I, 345) angeschlossen, der die Beobachtungen GOLENKINs und ROBERTSONs dahin ergänzte, daß er bei der genannten Alge besondere stark lichtbrechende Blaszellen vorfand, die den Ausgangspunkt der Blaufärbung bildeten. Auch bei *Spermothamnium roseolum* kommen stark lichtbrechende Zellen vor, die irgendeine Jodverbindung enthalten (KYLIN I, 346, II).

Das Jod kommt bei den Meeressalgen in anorganischer und organischer Bindung vor. Nach YOHUDA und ITO (I) ist der größte Teil des Algen-Jod organisch, und zwar gewöhnlich an Eiweiß gebunden, aus dem es durch Kochen mit verdünnter Formaldehydlösung in Freiheit gesetzt werden kann.

## 7. Salpetersäure und salpetrige Säure.

### Nachweis.

1. Mit Diphenylamin. MOLISEH (XVI, XVII) hat dieses Reagens zum Nachweis von Nitraten und Nitriten zuerst in die botanische

nicht aus den Zellen, sondern es wird nur verfärbt und wird durch das sauer reagierende Chloralhydrat in seiner Färbung restituiert. Das, was KOLKOWITZ bei seinem oben angeführten Experimente als Jodstärke angesehen hat, war in seiner Färbung wieder restituiertes Phycocerythrin. KOLKOWITZ sagt: „Während der Rotfärbung geht von dem vermuteten freien Jod nichts ins Chloralhydrat über, denn gleichzeitig beigelegte Kartoffelstärke blieb farblos.“ Würde Jod durch Chloralhydrat freigemacht worden, so wäre es doch ganz unverständlich, daß das Jod nicht aus den Zellen austreten und die Kartoffelstärke nicht blau färben sollte. Die Erklärung von KOLKOWITZ kann auch deshalb nicht richtig sein, weil ich bei *Spermothamnium* weder im Gewebe noch in der Asche Jod nachweisen konnte. Außerdem gelingt das KOLKOWITZsche Experiment auch mit Florideen, die gar keine Stärke besitzen; die erwähnte Rotfärbung rührt also in diesem Falle nicht von freigemachtem, aus der Pflanze stammendem Jod, sondern vom Phycocerythrin her, das durch das saure Chloralhydrat in seiner Färbung wieder hergestellt wird. Die Restituierung des Farbstoffes gelingt nicht bloß mit Chloralhydrat, sondern auch mit vielen anderen sauer reagierenden Substanzen und Säuren: Salzsäure, Schwefelsäure, Essigsäure und anderen.

1) Freies Jod soll auch bei einem Insekt auftreten. LOMAN (I) fand, daß der javanische Käfer *Cerapterus quatuor-maculatus* Westw. aus der Familie der Psephenidae Flüssigkeit ausspritzt, die angeblich freies Jod enthalten soll.

Mikrochemie eingeführt. Es hat sich sehr bewährt, denn das meiste, was über die Beziehungen der anorganischen Stickstoffsalze zur Pflanze in den letzten 30 Jahren aufgefunden wurde, ist auf die mikrochemische Anwendung dieses Reagens zurückzuführen. Die besten Dienste leisten Lösungen von  $\frac{1}{100}$  bis  $\frac{1}{10}$  g Diphenylamin in 10 cm reiner Schwefelsäure. Bringt man einen Tropfen dieses Reagens auf einen ein salpetersaures oder salpétrigsaures Salz enthaltenden Schnitt, so tritt eine tiefblaue Färbung auf, die je nach dem Nitrat- oder Nitritgehalt längere oder kürzere Zeit andauert, schließlich verschwindet oder ins Braungelbe übergeht. — Bei der Prüfung frischer Schnitte ist es nicht empfehlenswert, mit konzentrierten Lösungen zu arbeiten, da in diesem Falle das Diphenylamin beim Zusammentreffen mit Wasser (Zellsaft) herausfällt, wodurch die Reaktion unterbleibt oder nur sehr undeutlich hervortritt. Bei eingetrockneten Schnitten hingegen, wo die Nitrats in fester Form vorliegen, empfiehlt es sich, konzentrierte Lösungen anzuwenden. Sind nur Spuren von Stickstoffsalzen da, so erhält man mitunter keine Reaktion, wohl aber dann, wenn man den Schnitt am Objektträger austrocknen läßt und hierauf einen Tropfen recht konzentrierter Diphenylaminlösung hinzugibt: es tritt alsbald deutliche Blaufärbung ein, die sowohl makro- als auch mikroskopisch sichtbar wird. Bei der Untersuchung von Schnitten ist es vorteilhaft, soviel von dem Reagens auf dieselben zu bringen, daß sie vollständig untergetaucht sind. Dringt das Diphenylamin recht gleichmäßig von allen Seiten in das Gewebe eines Stengelquerschnittes ein, so läßt sich beobachten, daß die Blaufärbung hauptsächlich in Marke und im Rindenparenchym auftritt, weil hier die Nitrats in großer Menge vorhanden sind.

Das Eintreten einer Blaufärbung in Pflanzenschnitten mit Diphenylamin kann entweder von Nitraten oder von Nitriten oder von beiden zugleich herrühren. Ein positives Ergebnis läßt also vollständig unentschieden, ob das eine oder das andere oder beide vorhanden sind. Versuche von MOLISCH (XVII) und KLEIN (I) haben aber gezeigt, daß gewöhnlich in keiner Pflanze salpétrige Säure (Nitrite) aufgefunden wird und daß dieser Befund in der merkwürdigen Fahigkeit der Pflanze, die Nitrite bei der Aufnahme rasch zu verändern, seine Erklärung findet. Die in Pflanzenschnitten mit Diphenylamin auftretende Blaufärbung rührt in der Regel also nicht von Nitriten, sondern von Nitraten her. Die Angabe von SOLSTIEN (I), daß die Blaufärbung von Nitriten nicht hervorgerufen werden kann, beruht wohl auf einem Irrtum.

Abgesehen vom Nitration und Nitriten geben noch andere stark oxydierende Körper mit Diphenylamin Blaufärbung, z. B. Eisenchlorid, Eisenoxyd, Wasserstoffsuperoxyd, Kaliumpermanganat und Chromsäure. In der Pflanze kommen jedoch, abgesehen von Salpetersäure, diese Substanzen nicht vor, weshalb wir die in den vegetabilischen Geweben durch Diphenylamin hervorgerufene Blaufärbung eindeutig fast stets auf die Salpetersäure zurückführen können.

Obwohl die Diphenylamin-Reaktion dem Mikrochemiker ausgezeichnete Dienste leistet, so ist sie doch nicht, wie MOLISCH (XVII, 223) dargetan hat, frei von Schattenseiten. Sie wird nämlich durch die Gegenwart größerer Mengen von Holzsubstanz und anderer or-



ganischer Substanzen, beziehungsweise der daraus unter dem Einflusse von Schwefelsäure rasch entstehenden Huminkörper geschwächt oder verhindert. Imprägniert man einen Fichtenspan oder irgendeinen Querschnitt eines Baumzweiges mit einer verdünnten Salpeterlösung, die für sich allein die Reaktion mit Diphenylamin prompt gibt und tropft man hierauf das Reagens darauf, so färbt sich der Schnitt braunschwarz, aber nicht blau. Und doch ist Salpeter vorhanden. Die Angabe von CZAPEK (II), dieser Versuch rühre von SCHIMPER her, ist unrichtig. Er wurde zuerst von MOLISCH (XVII, 223) gemacht. Reagiert man dagegen auf ein salpeterhaltiges, unverholztes Parenchym, so erhält man deutliche Blaufärbung. Im ersteren Falle liegen viele verholzte Zellwände vor; der Holzstoff gibt im Kontakte mit konzentrierter Schwefelsäure sofort Huminsubstanzen und diese verhindern die Reaktion. Von der hemmenden Wirkung der Huminkörper auf die Reaktion kann man sich direkt überzeugen, wenn man aus kristallisiertem Rohrzucker Huminkörper mit Schwefelsäure erzeugt und vor der Ausführung der Probe der zu prüfenden Salpeterlösung etwas von den Huminkörpern zusetzt. Die Reaktion gelingt dann schwach oder gar nicht, da das entstehende blaue Oxydationsprodukt sofort durch die Huminkörper reduziert wird. Ein negatives Ergebnis berechtigt also noch nicht, auf die Abwesenheit von Nitrat zu schließen. Diese Tatsachen wurden von FRANK (I, II) ignoriert, von SCHIMPER (I, 218) aber vollständig bestätigt und erweitert.

2. Mit Brucin. MOLISCH (XVI, 152) verwendet eine Lösung von  $\frac{2}{100}$  Brucin in 10 cem reiner Schwefelsäure. Ein Tropfen einer solchen Lösung, mit einem Stengelquerschnitt von *Amarantus*, *Capsella* oder *Tradescantia* zusammengebracht, ruft eine hochrote oder rotgelbe vergängliche Färbung hervor. Auch diese Reaktion kann sowohl von Nitraten als auch von Nitriten herrühren, es gilt dafür das, was über diesen Punkt bei der Diphenylaminprobe gesagt wurde. Ist die vorhandene Salpetermenge gering, so ist die Rotfärbung nicht sehr deutlich, da die Brucinreaktion sich an Brauchbarkeit für phytochemische Zwecke mit der Reaktion I nicht messen kann.

3. Mit Cinchonamin. Dieses in der Rinde von *Remigia Pardi-cana* vorkommende Alkaloid  $C_{19}H_{21}N_2O$  gibt nach ARNAUD und PADÉ (I) mit Salpetersäure einen in angesäuertem Wasser fast ganz unlöslichen, kristallisierten Niederschlag. Die Kristallform wird von den Autoren leider nicht gekennzeichnet. Sie empfehlen, Schnitte in eine 0,1proz. Lösung von salzsaurem Cinchonamin zu legen, die mit Salzsäure etwas angesäuert ist. Bei Gegenwart von Nitraten entstehen zahlreiche Kristalle in den Zellen. Boraginaceen, Solanaceen, Urticaceen und Chenopodiaceen geben gute Resultate.

ELLRAM (I) spricht dem Cinchonamin-Reagens jeden praktischen Wert ab und hält das von MOLISCH in die Mikrochemie eingeführte Reagens für das beste.

Ich habe das Cinchonamin-Reagens überprüft und kann es gleichfalls nicht empfehlen, weil es sehr unempfindlich ist. Schnitte, die mit Diphenylamin prompt reagieren (*Tradescantia guianensis*), geben mit dem ARNAUD'schen Reagens keine oder eine undeutliche Reaktion.

4. Mit „Nitron“ (Diphenylanilodihydrotriazol.) Dieses von BUSCH (I) zuerst zur quantitativen Bestimmung der Salpetersäure

benutzte Reagens wird von der Firma Merck unter dem Namen „Nitron“ in den Handel gebracht. Man verwendet für mikroskopische Zwecke mit Vorteil eine Lösung von 10 g Nitron in 100 g einer 5 proz. Essigsäure. Wird ein salpeterhaltiger Tropfen oder Schnitt von *Tradescantia viridis* mit einem Tropfen dieses Reagens behandelt, so entstehen sofort oder nach ganz kurzer Zeit Kristallnadeln des betreffenden schwer löslichen Nitrats. Ist ziemlich viel Salpeter vorhanden, so bildet sich in und auf den Zellen ein förmlicher Kristallbrei. Leider ist die Reaktion nicht eindeutig, denn, wie schon BUSCH fand, geben auch andere Säuren mit Nitron schwerlösliche, kristallinische Fällungen, so Chlorsäure, Überchlorsäure, Rhodanwasserstoff, Ferro- und Ferricyanwasserstoff, Pikrin- und salpetrige Säure, und wie VISSER (I) fand, geben auch Oxalsäure und Salicylsäure schwerlösliche und Schwefelsäure, Salzsäure, Ameisen-, Essig-, Bor-, Benzoes-, Wein-, Zitronen- und Phosphorsäure leichtlösliche, untereinander oft recht ähnliche kristallinische Fällungen. Wenn man auch von den zuerst genannten Säuren, die in der Pflanze nicht vorkommen, also nie stören werden, absehen kann, so bleiben doch noch eine orkleckliche Anzahl übrig, von denen einzelne, wie z. B. die im Pflanzenreiche so verbreitete Oxalsäure, recht schwerlösliche, und zwar auch nadelförmige Fällungen geben.

KLEIN (I, 144), der alle bisher mikrochemisch verwendeten Reaktionen auf Nitrate und Nitrite kritisch überprüft hat, äußert sich über die Verwendbarkeit des Nitronreagens günstig, und zwar folgendermaßen: „Von den anderen schwerlöslichen Nitronverbindungen, deren Fällbarkeitsgrenzen aber bedeutend höher liegen als die des Nitrates (1:80000, nach FLURR 1:133000), kommen für uns nur das Nitrit und das Oxalat in Betracht. Ersteres ist von salpetersaurem Salz nicht mit Sicherheit zu unterscheiden.“ Für die Unterscheidung vom Oxalat mögen nach KLEIN folgende Merkmale dienen:

„Nitrat: Nadeln mit stumpfen Enden und Büschel; nach dem Umkristallisieren lange stumpfe Nadeln. Im polarisierten Licht lebhafte Interferenzfarben, besonders nach dem Umkristallisieren.“

Oxalat: Es entsteht zuerst eine Gallerte, welche sich allmählich in lange spitze Kristalle und Büschel umwandelt. Nur sehr dicke Kristalle zeigen manchmal stumpfe Enden. Nach dem Umkristallisieren große, gefiederte Büschel. Doppelbrechung, keine Interferenzfarben. Ebenso wie das Nitrat gerade Auslöschung. Bei Gegenwart von wenig Oxalsäure entsteht nur ein Niederschlag von gallertigem Aussehen, dessen kugelige Flocken in polarisiertem Licht schwarze Kreuze zeigen.“ KLEIN empfiehlt die Reaktion hauptsächlich da, wo die Reaktion mit Diphenylamin im Stiche läßt. Die von BUSCH angegebene optimale Lösung von 10% Nitron in 5 proz. Essigsäure leistet im allgemeinen die besten Dienste.

#### Vorkommen.

Mit Hilfe der beiden Proben 1 und 2 hat MOLISCH (XVI, XVII) zunächst etwa 50 krautartige, verschiedenen Familien angehörige Pflanzen auf ihren Nitratgehalt untersucht und Nitrate mit wenigen Ausnahmen in den Wurzeln, Stengeln und oft auch in den Blättern gefunden. Die Salpetermenge ist bei verschiedenen Pflanzen eine höchst variable. An der Spitze jener Gewächse, die einen ungemein hohen Salpetergehalt aufweisen und die wir geradezu als Nitratpflanzen par excellence

bezeichnen können, stehen vor allem zahlreiche Schutzpflanzen: die Gattungen *Amarantus*, *Chenopodium*, *Urtica*, *Mercurialis*, *Solanum*, *Sinapis*, *Helianthus*, *Capsella* und viele andere. *Helianthus*-pflanzen, die auf salpeterreichem Boden kultiviert wurden, speichern soviel Salpeter im Marke auf, daß kleine Stücke davon auf glühende Kohle geworfen unter Detonation verpuffen. Von jenen salpeterreichen Pflanzen bis zu jenen, die nur Spuren von Nitraten oder gar keine nachweisbaren Mengen enthalten, kommen alle Übergänge vor. Gewisse Salpeterpflanzen wie *Chenopodium bonus-Henricus* und *Urtica dioica* folgen dem Menschen bzw. den Stickstoffsalzen der Fäkalien, und aus dem Vorkommen dieser Pflanzen auf einem bestimmten Orte kann man auf das Vorhandensein größerer Nitratumengen dieser Lokalität schließen. Im Gegensatz zu den genannten krautigen Gewächsen stehen die meisten Holzgewächse, die, von Ausnahmen abgesehen, gewöhnlich keine oder nur eine sehr schwache Nitratreaktion geben (MONTEVERDE [III] und MOLISCH [XVII, 224]). Nitrate lassen sich, abgesehen von Phanerogamen, auch bei zahlreichen Moeres- und Süßwasseralgen, bei Pilzen, Moosen und Farnen mikrochemisch nachweisen.

Mittels der mikrochemischen Reaktion läßt sich leicht zeigen, daß in krautigen Stengeln die Nitratmenge von unten nach oben abnimmt. Zur Untersuchung dienten *Phaseolus multiflorus*, *Pisum sativum*, *Solanum tuberosum*, *Hartwegia comosa*. Fortigt man aus dem Stamme der bezeichneten Pflanzen von unten nach oben vorschreitend Querschnitte an, legt sie auf den Objektträger in eine Reihe und behandelt mit Diphenylaminlösung, so werden die dem älteren Stammteil entsprechenden Schnitte tiefblau, die darauffolgenden hellblau, die knapp unterhalb der Vegetationsspitze entnommenen dagegen nur ganz schwach bläulich oder bleiben ganz ungefärbt. Auch auf dem Querschnitt ist die Verteilung keine gleichmäßige. Mark- und Rindenparenchym stellen die eigentlichen Sammelpunkte für den Salpeter dar. Über weitere Details vgl. auch KLEIN (I). Hier finden sich auch einige Angaben über das höchst seltene Vorkommen von Nitriten in der Pflanze.

Woher kommen die großen Mengen von Salpeter in den Nitratpflanzen? BERTHELOT und ANDRÉ (I) glaubten behaupten zu können, daß die Nitrate zum großen Teile in der Pflanze selbst entstehen und daß die Salpeterbildung durch bestimmte Zellen vermittelt werde. MOLISCH (XVII) aber hat auf Grund von Kultur- und mikrochemischen Versuchen gezeigt, daß dem nicht so ist, sondern daß Pflanzen, die in nitrit- und nitratfreien Lösungen gezogen worden, niemals dergleichen Salze enthalten und daß somit die Anschauung BERTHELOTS und ANDRÉS, es werde für gewöhnlich Salpeter auch in der Pflanze gebildet, nicht richtig sein kann. Kommt also Salpeter, von gewissen Bakterien abgesehen, in einer Pflanze vor, so stammt er von außen, und enthält die Pflanze mehr davon als ihr Substrat, auf dem sie gedeiht, so ist dieses Plus einfach durch Speicherung zustande gekommen. Dieses Ergebnis von MOLISCH wurde später von FRANK und SCHIMPER bestätigt<sup>1)</sup>.

SCHIMPER hat die Frage, wo denn eigentlich die Nitrate in der höheren Pflanze verarbeitet würden, mikrochemisch geprüft. Im Gegensatz zu FRANK kam er zu dem Ergebnis, daß die Assimilation der Salpetersäure hauptsächlich in den grünen Zellen erfolgt und hält es für wahrscheinlich, daß das Chlorophyllkorn nicht bloß bei der Kohlensäureassimilation, sondern auch bei der Nitratverarbeitung als reduzierendes Organ wirke. Was den ersten Punkt anbelangt, daß die Nitratassimilation sich vornehmlich im grünen Blatte vollzieht, dürfte SCHIMPER recht

<sup>1)</sup> FRANK sagt merkwürdigerweise in einer Fußnote (II, 477) seiner Arbeit, ich hätte seine Versuche bestätigt. Das ist wohl nicht gut möglich, da ja meine Arbeit früher erschienen ist als seine. Bestätigen kann nur der Nachfolger, aber nicht der Entdecker.

behalten, bezüglich des zweiten Punktes aber sprechen die Arbeiten ZALESKIS und SUZUKIS dafür, daß es sich bei der Assimilation der Salpetersäure nicht um einen photochemischen Vorgang handelt. Über diese interessante Frage vgl. EULER (I, 132).

### c) Sauerstoff.

Um die von einer Kohlensäure assimilierenden, grünen Pflanze im Sonnenlichte abgeschiedene Sauerstoffmenge mikrochemisch nachzuweisen, gibt es bekanntlich verschiedene Methoden: die gasanalytische, die des Blasen zählen und die Phosphormethode. Für den Physiologen ist es aber von großer Wichtigkeit, die kleinen Mengen von Sauerstoff, die winzige Blätter, einzelne grüne Zellen oder sogar einzelne lebende Chlorophyllkörper abscheiden, konstatieren zu können. Hierfür besitzen wir unter anderem eine von ENGELMANN (I) herrührende Methode, die wohl zu den besten biologischen Methoden gehört und die der Pflanzenphysiologie bereits ausgezeichnete Dienste geleistet hat.

1. Die Engelmännische Bakterienmethode basiert auf der außerordentlichen Sauerstoffempfindlichkeit gewisser Bakterien. Es ist bereits lange bekannt, daß viele Bakterien ein lebhaftes Bedürfnis nach Sauerstoff haben, bei Sauerstoffmangel unbeweglich, bei Sauerstoffzufluß beweglich werden, sich unterm Deckglas um Luftblasen ansammeln oder dem sauerstoffreichen Deckglasrande zustreben. Diese Eigentümlichkeit hat sich ENGELMANN zunutze gemacht und in den Dienst seines Verfahrens gestellt. „Bringt man nun in einen an bewegungsfähigen Bakterien reichen Tropfen einige grüne Zellen, z. B. *Englena*, Stuckchen von Fadenalgen oder einige braune Diatomeen (z. B. *Navicula*), bedeckt mit dem Deckglas und stellt eine oder mehrere dieser Zellen im erleuchteten Gesichtsfeld des Mikroskops bei etwa 200—300maliger Vergrößerung ein, so sieht man, wie sich in kurzer Zeit lebhaft schwärmende Bakterien um diese Zellen anhäufen. Dieselben bleiben hier noch in lebhafter Bewegung, wenn an allen übrigen Stellen im Tropfen bereits völliger Stillstand eingetreten ist. Verdunkelt man nun plötzlich das Gesichtsfeld so weit, daß die schwärmenden Bakterien noch deutlich sichtbar sind (oft reicht viel geringere Verdunkelung aus), so stellen letztere alsbald ihre Bewegung ein und bleiben entweder still am Orte liegen oder zerstreuen sich allmählich durch Molekularbewegung in der umgebenden Flüssigkeit. Läßt man jetzt wieder volles Licht einfallen, so beginnen augenblicklich die hin- und herschwellenden Bewegungen im Umkreis der chlorophyllhaltigen Zelle aufs neue, und haufen sich die schwärmenden Bakterien daselbst allmählich wieder an. Diese Versuche können in kurzer Zeit am nämlichen Objekt viele Male mit stets gleichem Erfolg wiederholt werden.

Die nächstliegende und, wie genauere Prüfung lehrt, auch die einzig zutreffende Erklärung der letztbeschriebenen Erscheinungen ist diese: Die chlorophyllhaltigen Zellen scheiden im Lichte Sauerstoff ab und dieser ist es, der die Bakterien veranlaßt, sich zu bewegen und an der Sauerstoffquelle sich anzusammeln: Im Dunkeln hört die Sauerstoffausscheidung auf und der infolge des raschen Sauerstoffverbrauchs der Bakterien jetzt eintretende Sauerstoffmangel macht den Bewegungen ein Ende. In den Bewegungen der Fäulnisbakterien ist demnach ein

ebenso einfaches wie äußerst empfindliches Reagens auf freien Sauerstoff gegeben."

Bei der Ausübung dieser Methode kommt es vor allem darauf an, sich das passende Bakterienmaterial zu verschaffen. Zu diesem Zwecke lege man sich verschiedene Kulturen von Bakterien in Gläsern an. Einige Einsiedgläser werden mit gewöhnlichem Leitungs- oder Brunnenwasser beschickt und dann entweder mit einigen faulen Erbsen, mit etwas Fleischextrakt, mit Pferde- oder Kuhmist, mit Heu oder einem toten Regenwurm versehen. Ein oder das andere Gefäß wird nach einigen Tagen hierfür ein günstiges Material liefern. Bewegliche Stäbchen oder Spirillen treten oft dominierend auf und können dann ohne weiteres verwendet werden. Noch besser ist es, sich von sauerstoffempfindlichen beweglichen Bakterien Reinkulturen zu verschaffen, weil dann die ganze Versuchsanstellung sauberer ausfällt. Der Bakterientropfen wird auf den Objektträger gebracht, mit den zu untersuchenden kohlenensäureassimilierenden Zellen versehen, mit dem Deckglas bedeckt und der Rand rasch mit Vaseline, Wachs oder Paraffin

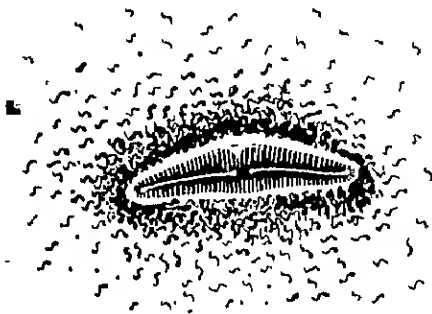


Fig. 35.

*Cocconema* sp. entwickelt im Lichte Sauerstoff und dieser lockt *Spirillum Undula* in großer Menge an. Vergr. 300.

verschlossen, um die Verdunstung der Flüssigkeit und ein Zuströmen des Sauerstoffes zu verhindern. Im Anfange erscheinen die Bakterien gleichmäßig verteilt, aber alsbald ändert sich, falls im Lichte beobachtet wird, das Bild: die Bakterien sammeln sich in unmittelbarer Nähe oder auf einer geringen Distanz um assimilierende, d. h. Sauerstoff abgebende Zellen an. Bei Verdunkelung zerstreuen sie sich, werden unbeweglich, um bei erneuter Beleuchtung wieder zu den grünen Zellen zu schwimmen (Fig. 35). Hat man

gleichzeitig zwei oder mehr sauerstoffempfindliche Bakterien im Präparat, so läßt sich beobachten, daß sie sich nicht selten in verschiedenen Distanzen vor der sauerstoffexhalierenden Zelle ansammeln, weil sie auf verschiedene Sauerstoffspannungen gestimmt sind. Man kann hierdurch bis zu einem gewissen Grade eine Separation der verschiedenen Arten herbeiführen. Dies gelingt besonders gut mit Spirillen.

Da viele farblose Infusorien und Flagellaten ebenfalls oft sehr sauerstoffempfindlich sind, kann man auch diese als Reagens auf Sauerstoff verwenden, z. B. *Paramecium aurelia*, *Colpidium colpoda* u. a. Die Bakterien eignen sich ihrer größeren Geschwindigkeit, leichteren Beschaffbarkeit und ihrer Kleinheit wegen viel besser hierzu als Infusorien.

Die Empfindlichkeit dieser biologischen Reaktion ist eine geradezu verblüffende. Sehr sensible Bakterien, namentlich gewisse Spirillen, zeigen noch den trillionsten Teil eines Milligramms Sauerstoff an. Nach C. MAXWELLS Berechnung beträgt der wahrscheinliche Wert des Gewichtes

eines Sauerstoffmoleküls etwa ein Dreizehentrillionstel Milligramm, mit anderen Worten, die Bakterienprobe vermag (theoretisch) sicher noch ein Molekül Sauerstoff anzuzeigen! Welchen Wert eine solche Methode für die Physiologie hat, läßt sich leicht ermessen und in der Tat wurden mit Hilfe dieses Verfahrens schon mehrere fundamentale Tatsachen festgestellt. — Bei der Durchführung der Reaktion muß auf eventuelle Fehlerquellen geachtet werden, denn es können auch durch Ausscheidungen verschiedener Art Bakterien chemotaktisch gereizt werden. In solchen Fällen wird man nicht vernachlässigen dürfen, im Lichte und im Finstern zu prüfen, denn falls es sich wirklich um Sauerstoffproduktion infolge von Kohlensäureassimilation handelt, darf die Ansammlung der Bakterien nur im Lichte erfolgen.

2. Die Leuchtbakterienmethode. Verschiedene Bakterien haben die Fähigkeit zu leuchten und ihre Lichtentwicklung erscheint unter anderem von der Gegenwart des Sauerstoffes abhängig. Schon außerordentlich geringe Mengen Sauerstoff reichen hin, um die Lichtproduktion zu ermöglichen. Ich pflege dies in meinen Vorlesungen in folgender Weise zu demonstrieren (XV, 105). Eine 1—1½ m lange und etwa 8 mm breite, an einem Ende zugeschmolzene Glasröhre wird mit stark leuchtender Bouillon (gemischt mit *Bacterium phosphoreum*) nahezu ganz gefüllt, so daß an der oberen Öffnung ein ½ cm langes Stück mit Luft versehen übrig bleibt. Läßt man nun eine so vorbereitete Röhre etwa eine Viertelstunde oder länger stehen, so erlischt, da die Bakterien den Sauerstoff veratmen, die Bouillon mit Ausnahme des Meniskus, wo der Sauerstoff die Bakterien unmittelbar erreicht. Verschießt man jetzt die Röhre mit dem Daumen und kehrt sie um, so steigt die Luft in Form einer Blase auf und macht die ganze Bouillon wieder leuchtend; man glaubt im Finstern eine langsam aufsteigende Leuchtrakete zu sehen. Stellt man die Röhre dann wieder ruhig hin, so erlischt binnen einer Viertelstunde oder noch früher die Bouillon und der Versuch kann dann von neuem wiederholt und die Bouillon neuerdings leuchtend gemacht werden (MOLISCH XV, 105). BEIJERNECK (I, II) hatte nun den ingenösen Einfall, die Sauerstoffproduktion grüner Zellen durch die Lichtentwicklung der Photobakterien zu veranschaulichen und machte folgendes wichtige Experiment. Lebende Blätter vom Klee wurden mit destilliertem Wasser verrieben und das Gerickeß filtriert. Man erhält hierbei ein grünes Filtrat, in dem das im Wasser lösliche lebende Protoplasma und zahlreiche Chlorophyllkörner vorhanden sind. Wenn man nun diese grüne Flüssigkeit mit einer Kultur von Leuchtbakterien in Fischbouillon (mit 3% Kochsalz oder im Meerwasser) in einer Proberöhre oder in einer Flasche mischt und das Ganze einige Zeit stehen läßt, so wird die Flüssigkeit nach Verbrauch des absorbierten Sauerstoffes dunkel, darauf dem Lichte ausgesetzt, wird die Flüssigkeit, bzw. es werden die darin verteilten Bakterien infolge des im Lichte entbundenen Sauerstoffes wieder leuchtend. Ist der Blattsaft frisch und wird die Flasche eine Minute oder länger in die volle Sonne gestellt, so wird so viel Sauerstoff gebildet, daß die Bakterien, hinauf ins Dunkle gebracht, noch einige Minuten fortfahren zu leuchten. Wie groß die Empfindlichkeit dieser Methode ist, geht daraus hervor, daß das Licht eines angezündeten Streichholzes genügt, um die Sauerstoffproduktion und damit das Aufleuchten der Bakterien hervorzurufen.

Bei mehrstündigem Stehen verliert das grüne Filtrat die Fähigkeit, Kohlensäure zu assimilieren. Abgesehen vom Klee erhielt ich namentlich mit den Blättern von *Lamium album*, *Sambucus nigra* und *Calendula officinalis* sehr gute Resultate. BALDASSERONI (I) empfiehlt Blätter von *Spinacia oleracea*, *Sonchello vulgaris*, *Veronica* usw.

Als Leuchtbakterie verwende man *Bacterium phosphoreum* (COHN) MOLISCH, das sich durch sein brillantes Leuchten auszeichnet und von Rindfleisch leicht erhalten werden kann. Als Kulturmedium eignet sich eine schwach alkalische Fleischbouillon von folgender Zusammensetzung: 1 l verdünnter Rindfleischsaft (von  $\frac{1}{8}$  kg Rindfleisch), 10 g Pepton, 10 g Glycerin und 80 g Kochsalz. Soll in einem festen Medium beobachtet werden, so sind zu dieser Bouillon noch 100 g Gelatine hinzuzufügen. Über die Beschaffung der genannten Bakterie und die Gewinnung von Reinkulturen derselben vergleiche man MOLISCH (XV).

Sehr zweckmäßig erweisen sich bei den Leuchtversuchen Glasgefäße (Präparatengläser) von etwa 9 cm Höhe und 2 cm innerer Breite mit eingeriebenem Stöpsel. Wird ein Extrakt, z. B. aus zerriebenen Blättern, auf sein Sauerstoffbindungsvermögen geprüft, so wird das Glasgefäß zu  $\frac{1}{3}$  bis zur Hälfte mit frischem Filtrat, sodann bis hinauf mit stark leuchtender Bouillon gefüllt und schließlich der Stöpsel unter Vermeidung von Luftblasen eingesetzt. Nach  $\frac{1}{2}$  Stunde oder etwas längerer Zeit ist das Leuchten im Finstern erloschen und die Mischung für den Versuch fertig (MOLISCH XIV).

Die Schattenseiten der sonst so ausgezeichneten Leuchtbakterienmethode liegen unter anderem darin, daß sie bei Verwendung ganzer, frischer Blätter höherer Pflanzen gewöhnlich versagt. Es ist dies vielleicht darauf zurückzuführen, daß die Schließzellen der Spaltöffnungen durch das Kochsalz der Bouillon plasmolysiert, die Spalten geschlossen und hierdurch die Pforten für den Austritt des entbundenen Sauerstoffs verlegt werden.

3. Die Blutprobe. HORRE-SEYLER (I) machte zuerst folgenden Versuch: „In ein unten zugeschmolzenes Glasrohr von ungefähr 1,5 bis 2 cm Weite und 20–30 cm Länge wird ein ungefähr 1–1,5 cm langes Stück von der Wasserpest, *Elodea canadensis*, eingesetzt, durch ein Trichterrohr Wasser eingegossen, dem ein wenig faulendes Blut zugesetzt ist, bis die Pflanze unter Wasser steht, dann wird die Röhre oben vor dem Gebläse zu einem engen Röhrchen ausgezogen, erkalten gelassen, bis zur Engo mit dem blutigen Wasser gefüllt, dann nahe über dem Wasserniveau zugeschmolzen“. Bei richtiger Verdünnung des Blutes erkennt man bei Beobachtung im Sonnenlichte mittels eines Browningschen Taschenspektroskops die beiden charakteristischen Absorptionsbänder des Oxyhämoglobins. Läßt man dann die Röhre im Finstern kurze Zeit liegen, so verschwindet infolge der Atmung der Fäulnisbakterien und der *Elodea* der Sauerstoff und bei erneuter Prüfung erscheint jetzt, oft schon nach wenigen Minuten, an Stelle der beiden früheren Absorptionsstreifen nur der eine des Hämoglobins. Sowie das Rohr wieder ins Sonnenlicht gehalten wird, tauchen im Spektroskop sehr bald wieder die beiden Absorptionsbänder des Oxyhämoglobins auf, zuerst in der Nähe der Pflanze, bei längerer Beleuchtung innerhalb der ganzen Flüssigkeit.

Innerhalb der nächsten 8 Tage kann der Versuch beliebig oft wiederholt werden, später versagt er, offenbar weil die Lebensbedingungen für die Pflanze zu abnorm werden.

Die Blutprobe wurde dann später von ENGELMANN (II) auch mikroskopisch verwertet. Wird ein chlorophyllreicher Faden von *Spirogyra* von etwa 0,1 mm Dicke und 1 cm Länge unter das Deckglas in einen Tropfen wenig oder nicht verdünnten Rinderblutes, das durch einen Strom Wasserstoff oder Kohlensäure eine deutlich venöse Farbe angenommen hatte, gebracht und dann das Präparat in helles diffuses Licht gelegt, so färbte sich innerhalb 10—15 Minuten die unmittelbare Umgebung des Algenfadens bis auf  $\frac{1}{2}$ , ja 2 mm Entfernung hell arteriell rot. In direktem Sonnenlicht erscheint die Rötung innerhalb eines Bruchteils einer Minute. Da die Grenze zwischen der dunklen venösen und der hellen arteriellen Farbe sehr scharf ist, kann sie auf weniger als 0,1 mm genau im Mikroskop bestimmt werden. Sowie das Präparat ins Dunkle gebracht wird, kehrt die venöse Farbe in derselben Zeit wieder zurück. Obwohl diese Methode sich in betreff der Empfindlichkeit nicht mit der Bakterienmethode messen kann, entsteht doch bei intensiver Beleuchtung um eine einzelne grüne Zelle ein hellroter Hof, es wird also schon eine sehr geringe Menge Sauerstoff durch die Blutprobe angezeigt.

Die Sauerstoffausscheidung im Lichte und Sauerstoffabsorption im Finstern konnte mittels des Spektralkulars oder noch besser mittels des Mikrospektralphotometers dargestellt werden. Bei Belichtung der Zelle treten schon nach 10—20 Sekunden die beiden Bänder des Oxyhämoglobins auf, um bei Verdunkelung dem Hämoglobinband Platz zu machen.

4. Nachweis mit Indigweiß. REGNARD (I), BELJERINCK (I, 741) und KNY (I) haben durch Natriumhydrosulfid reduziertes Indigblau zur Prüfung der Chlorophyllfunktion verwendet. Bringt man in eine mit diesem Reagens (s. p. 21) gefüllte Flasche einen frischen Sproß von *Elodea canadensis* oder *Funaria hygrometrica* und besonnt man nach sorgfältigem Verschuß der Flasche die Pflanzen, so bildet sich nach wenigen Minuten ein deutlich blauer Hof. Sowie der Hof entsteht, kann er durch Schütteln leicht zum Verschwinden gebracht, beim ruhigen Stehen wieder alsbald hervorgebracht werden. Im allgemeinen ist aber doch recht starkes Licht zur Bildung von Indigblau notwendig, woraus schon hervorgeht, daß sich diese Methode mit der ENGELMANNschen und der Leuchtbakterienmethode bezüglich Empfindlichkeit nicht messen kann.

Wasserstoffsuperoxyd konnte bisher in der Pflanze unter normalen Verhältnissen nicht nachgewiesen werden, obwohl es sich künstlich in die lebende Zelle einführen läßt. Die Behauptung, daß sich  $H_2O_2$  bei der Kohlensäureassimilation bilde, hat sich als unrichtig erwiesen (MOLISCH XXIV).

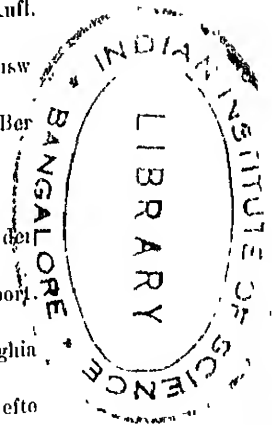


## Literatur

zu p. 96 bis 98.

- Arnaud, A. et Padé, L., I. Recherche chimique de l'acide nitrique, de nitrates dans les tissus végétaux. (Compt. rend. 1881, T. XCVIII, p. 1488.)
- , II. Annales de Chimie et de Physique. 1890. sér. VI, T. XIX, p. 123.
- Babiy, J., I. Über das angeblich konstante Vorkommen von Jod im Zellkorn. (Ber. d. deutsch. bot. Ges. 1913, p. 35.)
- Baldasseroni, V., I. Annali di Bot. 1906, IV, 287.
- Behrens, H., I. Anleitung zur mikrochemischen Analyse. 2. Aufl. 1899.
- Beijerinck, M. W., I. Kulturversuche mit Zoochlorellen usw. (Bot. Ztg. 1890, p. 744.)
- , II. Photobacteria as a Reactive in the Investigation of the Chlorophyllfunction. (Königl. Akad. van Wetensch. te Amsterdam. 1901. p. 45.)
- Belzung, E., I. Sur divers principes issus de la germe et leur crist. intercellul. (Journ. d. Bot. 1892, p. 49.)
- , II. Nature des sphérocristaux des Euphorbes cactiformes. (Journ. d. Bot. 1893, T. VII, p. 221.)
- Benocke, W., I. Über Kulturbedingungen einiger Algen. (Bot. Ztg. 1898, Jg. 56, p. 83.)
- Bonsley, R. R., I. An Examination of the Methods for the microchem. Detection of Phosphorus Compounds etc. (Biolog. Bull. 1906, Vol. 10, p. 49.)
- Borsa, E., I. Über das Vorkommen von kohlensaurem Kalk in einer Gruppe von Schwefelbakterien. (Sitzungsber. d. Kais. Akad. d. Wiss. i. Wien Abt. I Bd. CXXIX, 1920, p. 231.)
- Berthelot et André, I. Sur la formation du salpêtre dans les végétaux. (Compt. rend. 1881, T. XCVIII, u. T. XCIX.)
- Boehm, J., I. Über den vegetabilischen Nährwert der Kalksalze. (Sitzungsber. d. Kais. Akad. i. Wien. 1875. Bd. LXXI, Abt. I, p. 12—13.)
- Bourcet, I. De l'iodo dans l'organisme, ses origines, son rôle, son élimination Thèse Paris, Jouvo et Boyer 1900.
- Brunswik, H., I. Über das Vorkommen von Gipskristallen bei den Tamnaceae (Sitzungsber. d. Wien. Akad. d. Wiss. i. Wien. Abt. I. Bd. CXXIX, 1920, p. 115.)
- , Über die Färbbarkeit der Silberchloridkristalle mit organischen Farbstoffen (Ztschr. f. wiss. Mikroskopie, Bd. XXXIX, 1921, p. 150—152.)
- Busch, M., I. Gravimetrische Bestimmung der Salpetersäure (Ber. d. d. chem. Ges. Jg. 38, 1905, Bd. I, p. 861—866. Refer. i. Chem. Zbl. 1905, Jg. 76, I, p. 900.)
- Cario, R., I. Anatomische Untersuchung von Tristicha hypnoides Spreng. (Bot. Ztg. 1881, Jg. 39, p. 25.)
- Cohn, F., I. Beiträge zur Biologie der Pflanzen. 1875, Bd. I, Heft 3
- , II. Über Tabaschir. (Ebenda. 1887, Bd. IV, Heft 3, p. 365.)
- Corsini, A., I. Über die sogenannten „Schwefelkörnerchen“, die man bei der Familie der „Beggiateneae“ antrifft. (Zbl. f. Bakt. Abt. II, 1905, Bd. XIV, p. 272.)
- Cramer, I. In Dr. M. Möllers chem.-phys. Beschreibung der Thermen von Baden u. der Schweiz. 1870.
- Grüger, H., I. Westindische Fragmente. (Bot. Ztg. 1857, Jg. 15, p. 281.)
- Gzapek, F., I. Zur Lehre der Wurzelauausscheidungen. (Jahrb. f. wiss. Bot. 1896, Bd. XXIX, p. 332.)
- , II. Biochemie. Bd. II, p. 521.
- Ebermayer, E., I. Physiolog. Chemie der Pflanzen. Berlin 1882, p. 765.

- Ellram, W., I. Über den mikrochemischen Nachweis von Nitraten in Pflanzen. (Sitzungsber. d. Naturf. Ges. d. Univ. Dorpat 1895, Bd. XI, p. 105—116.)
- Engelmann, Th. W., I. Neue Methode z. Untersuchung der Sauerstoffabscheidung pflanzlicher und tierischer Organismen. (Bot. Ztg. 1881, Jg. 39, p. 441; 1883, Jg. 41, p. 1; 1886, Jg. 44, p. 43.)
- , II. Über Blutfarbstoff als Mittel, um den Gaswechsel von Pflanzen im Licht u. im Dunkeln zu unterscheiden. (Biolog. Zbl. 1888/89, Bd. VIII, p. 36.)
- Euler, H., I. Grundlagen u. Ergebnisse d. Pflanzenchemie. II. Jg. 1908, p. 132.
- Fischer, A., I. Die Zelle der Cyanophyceen. (Bot. Ztg. 1905, Jg. 63, p. 114.)
- , II. Über das Vorkommen von Gipskristallen bei den Desmidiaceen. (Jahrb. f. wiss. Bot. 1884, Bd. XIV, p. 133.)
- Fluri, M., I. Der Einfluß von Aluminiumsalzen auf das Protoplasma. (Flora 1909, Bd. XCIX, p. 81.)
- Fresenius, C. R., I. Anleitung zur qualitativen chemischen Analyse. 16. Aufl. 1895, p. 121.
- Frank, B., I. Untersuchungen über die Ernährung der Pflanze mit Stickstoff usw. (Landwirtsch. Jahrb. 1888, p. 421.)
- , II. Über Ursprung und Schicksal der Salpetersäure in den Pflanzen usw. (Ber. d. D. bot. Ges. 1887, p. 477.)
- Gantier, A., I. Compt. rend. 1899, T. CXXIX, p. 189.
- , Compt. rend. 1899, T. CXXVIII, p. 613.
- Gieckhorn, J., I. Zur Morphologie und Mikrochemie einer neuen Gruppe der Purpurbakterien. Ber. d. D. bot. Ges. 1921, Bd. XXXIX, p. 322—319.
- Gilson, G., I. On the Affinity of Nuclein for Iron and other Substances. (Report. Brit. Ass. Adv. Sci. 1892, p. 778.)
- Gola, G., I. Lo zolfo e i suoi composti nell'economia delle piante. (Malpighia 1902, Vol. XVI, p. 368.)
- Gössl, J., I. Über das Vorkommen des Mangans in der Pflanze usw. (Beihfte z. Bot. Zbl. 1905, Bd. XVII, I. Abt., p. 119.)
- Golenkin, M., I. Algologische Notizen. (Bull. de la soc. impér. d. naturalistes de Moscou. Jg. 1891, n. sér., T. VIII, p. 257. Ref. Zeitschr. f. Mikr. 1891, Bd. XI, p. 533.)
- Grob, A., I. Beiträge z. Anatomie der Epidermis der Gamneenblätter. Stuttgart 1896, Bibliotheca Botanica, 36. Heft.
- Huberlandt, G., I. Zur Anatomie und Physiologie der pflanzlichen Brennhaare. (Sitzungsber. d. kais. Akad. d. Wiss. i. Wien 1886, Bd. XCIII, Abt. I, 123.)
- Hrnllein u. Connelley, I. Landw. Versuchsst. 1879, Bd. XVIII, p. 171.
- Hansen, A., I. Über Sphärokristalle. (Arb. d. Würzburger Inst. 1881, Bd. III, p. 101.)
- Hansteen, B., I. Über das Verhalten der Kulturpflanzen zu den Bodensalzen. (Jahrb. f. wiss. Bot. 1910, Bd. XLVII, p. 289.)
- Haushofer, K., I. Mikroskopische Reaktionen. Braunschweig 1885.
- Heinricher, E., I. Ein reduziertes Organ bei *Campanula persicifolia* und einigen anderen *Campanula*-Arten. (Ber. d. D. bot. Ges. 1885, Bd. III, p. 4.)
- Hinze, G., I. Über Schwefeltropfen im Innern von Oscillarien. (Ber. d. D. bot. Ges. 1903, Bd. XXI, p. 394.)
- Holzner, G., I. Über Kristalle in den Pflanzenzellen. Inaug.-Diss. n. Flora 1861, p. 34.
- Hoppe-Seyler, F., I. Einfacher Versuch zur Demonstration der Sauerstoffausscheidung durch Pflanzen im Sonnenlichte. (Zeitschr. f. physiol. Chemie 1878/79, Bd. II, p. 425.)



- Iwanoff, L., I. Das Auftreten und Schwinden von Phosphorverbindungen in der Pflanze. (Jahrb. f. wiss. Bot. 1901, Bd. XXXVI, p. 355.)
- Jönsson, B., I. Entstehung schwefelhaltiger Ölkörper in den Myzeliiden von *Penicillium glaucum*. (Bot. Zbl. 1889, Bd. XXXVII, p. 201.)
- Jung, J., I. Über den Nachweis und die Verbreitung des Chlors im Pflanzenreiche. (Sitzungsber. d. Akad. d. Wiss. in Wien 1920, Bd. CXXIX, p. 297.)
- Justus, J., I. Über den physiologischen Jodgehalt der Zelle. (Virchows Archiv 1902, Bd. CLXX, Folge XVI, Bd. X, p. 501.)
- , II. Ebenda 1904, CLXXVI, Folge XVII, Bd. VI, p. 1. (Refer. Biochem. Zbl. Bd. I, 1903, p. 142.)
- Kärner, W., I. Über den Abbruch und Abfall pflanzlicher Behaarung und den Nachweis von Kieselsäure in Pflanzenhaaren. (Nova acta d. K. Leop.-Carol.-Deutsch. Akad. d. Naturf. 1889, Bd. LIV, Nr. 3, p. 257.)
- Kerner, A. v., I. Pflanzenleben. Leipzig 1887, Bd. I, p. 300.
- Kisser, J., Über den mikrochemischen Nachweis gelöster Kalziumsalze als Kalziumtartrat. (Beih. z. bot. Zbl. 1922, Bd. XXXIX, p. 116.)
- Klebahn, H., I. Gasvakuolen, ein Bestandteil der Zellen bei wasserbläutbildenden Phykococcaceen. (Flora 1895, p. 241.)
- Klein, R., I. Über Nachweis und Vorkommen von Nitraten und Nitriten in Pflanzen. (Beih. z. bot. Zbl. 1913, Bd. XXX, Abt. I, p. 141.)
- Kny, L., I. Die Abhängigkeit der Chlorophyllfunktion von den Chromatophoren und vom Cytoplasma. (Ber. d. D. bot. Ges. 1897, Bd. XV, p. 388.)
- Kohl, F. G., I. Anatomisch-physiologische Untersuchung der Kalksalze und Kieselsäure in der Pflanze. Marburg 1889.
- Kolderup-Rosenvinge, L., I. Sphärokristalle hos Mesembryanthemum (Videnskabelige Meddelelser fra den Naturhistor. foren i Kjøbenhavn 1877/78, p. 305.)
- Kolkwitz, R., I. Beitr. zur Biologie der Florideen. (Wiss. Meeresunters. Neue Folge, Bd. IV, Abt. I, Helgoland 1900.)
- Kolpin, Ravn F., I. Sur l'existence de „cystolithes rudimentaires“ silicifiés chez quelques Loranthees. (Botanisk Tidsskrift 1897, Bd. XXI, Kopenhagen, p. 311.)
- Koninek, L. L. de, I. Neue Reaktion auf Kali. (Zeitschr. f. anal. Chemie 1881, Bd. XX, p. 390.)
- Kratzmann, E., I. Der mikrochemische Nachweis und die Verbreitung des Aluminiums im Pflanzenreich. (Sitzber. d. Kais. Akad. d. Wiss. in Wien 1913, Abt. I, p. 311.)
- , II. Zur physiologischen Wirkung der Aluminiumsalze auf die Pflanze. (Sitzber. d. Kais. Akad. d. Wiss. in Wien 1914, Bd. CXXIII, Abt. I, p. 221.)
- Krüster, E., I. Die anatomischen Charaktere der Chrysobalanceen, insbesondere ihre Kieselsäureablagerungen. (Bot. Zbl. 1897, Bd. LXIX, p. 16.)
- Kylin, H., I. Untersuchungen über die Biochemie der Meeresalgen. (Zeitschr. f. physiol. Chemie., Bd. XCVI.)
- , II. Über Blasenzellen einiger Florideen und ihre Abspaltung von Jod. (Arkiv för Botanik 1915, Bd. 14, Nr. 5.)
- Ladenburg, A., I. Ber. d. D. Chem. Ges. 1872, Bd. V, p. 508.
- Lange, W., I. Über die Natur der in den Pflanzen vorkommenden Siliziumverbindungen. (Ber. d. D. Chem. Ges. 1878, Jg. XI, p. 822.)
- Leitgeb, H., I. Über Sphärite. (Mitteil. a. d. bot. Institut zu Graz 1888, p. 257.)
- Lilienthal, L. u. Monti, A., I. Über die mikrochemische Lokalisation des Phosphors in den Geweben. (Zeitschr. f. physiol. Chemie 1893, Vol. XVII, p. 410.)

- Linshauer, K., I. Zur physiologischen Anatomie der Epidermis und des Durchlüftungsapparates der Bromeliaceen. (Sitzungsber. d. Kais. Akad. d. Wiss. in Wien 1911, Bd. CXX, Abt. I, p. 328)
- Loew, O., I. Über die physiologischen Funktionen der Calciumsalze. (Bot. Zbl. 1898, Bd. LXXIV, p. 257.)
- Loman, C., I. Freies Jod als Drüsensaekret. (Tijdschr. d. nederlandsche Dierkundige Vereenig. 2. ser. Deel I, 1885—1887.)
- Macallum, A. B., I. Die Methoden und Ergebnisse der Mikrochemie in der biologischen Forschung. (Ergebnisse d. Physiologie 1908, Jg. VII.)
- , II. On the Demonstration of the Presence of Iron in Chromatin by Microchemical methods. (Proceedings of the Royal Society of London 1892, Vol. I, p. 280.)
- , III. On the distribution of Potassium in Animal and Vegetable Cells. (Journ. of Physiolog. 1905, Vol. XXXII, p. 95.)
- , IV. On the Detection and Localisation of Phosphorus in Animal and Vegetable Cells. (Proc. Roy. Soc. 1898, Vol. LXIII, p. 467)
- , V. On the Nature of the Silver Reaktion in Animal and Vegetable Tissues. (Ehrenda 1905, Vol. B. LXXVI, p. 217.)
- , u. Miss M. I. Menton, On the Distribution of Chlorides in Nerve Cells and Fibres. (Ehrenda 1906, Vol. B. LXXVII, p. 165)
- Mangin, L., I. Propriétés et réactions des composés pectiques. (Journ. de Botanique 1892, Ref. Bot. Zbl. 1893, Bd. LVI, p. 175.)
- Melnikoff, I. Untersuchungen über das Vorkommen des kohlensauren Kalkes in der Pflanze. Inaug.-Diss. Bonn 1877.
- Meyer, E., I. Über die Resorption und Ausscheidung des Eisens. (Ergebnisse d. Physiologie 1906, Jg. V, Abt. I u. II, p. 722—733)
- Miliarakis, I. Die Verkieselung lebender Elementarorgane bei den Pflanzen. Inaug.-Diss. 1881.
- Moehtus, M., I. Über ein eigentümliches Vorkommen von Kieselkörpern in der Epidermis und den Bau des Blattes von *Callisia repens*. (Wiesner-Festschrift, Wien 1908, p. 81.)
- Muhl, H. v., I. Über das Kieselskelett lebender Pflanzenzellen. (Bot. Ztg. 1861, p. 209.)
- Molisch, H., I. Die Pflanze in ihren Beziehungen zum Eisen. Jena 1892. Hier die einschlägige Literatur bis zum Jahre 1892
- , II. Bemerkungen über den Nachweis von maskiertem Eisen. (Ber. d. D. bot. Ges. 1893, 1893, Bd. XI, p. 73)
- , III. Die Eisenbakterien. Jena 1910
- , IV. Über lokale Membranfärbung durch Manganverbindungen bei einigen Wasserpflanzen. (Sitzungsber. d. Kais. Akad. d. Wiss. in Wien 1909, Bd. CXVIII, p. 1127)
- , V. Der Einfluß des Bodens auf die Blütenfarbe der Hortensien. (Bot. Ztg. 1897, p. 19.)
- , VI. Studien über den Milchsaft und Schleimsaft der Pflanzen. Jena 1901.
- , VII. Die Ernährung der Algen. I. Abhandl. (Sitzungsber. d. Kais. Akad. d. Wiss. in Wien 1895, Bd. CIV, Abt. I.)
- , VIII. Über die Ablagerung von kohlensaurem Kalk im Stamme dikotyler Holzgewächse. (Ehrenda 1881, Bd. LXXXIV.)
- , IX. Über kalkfreie Cystolithen. (Österr. bot. Zeitschr. 1882, Nr. 11.)
- , X. Die sogenannten Gasvakuolen und das Schweben gewisser Phykochromaceen. (Bot. Ztg. 1903, p. 47.)

- Molisch, H., XI. Zwei neue Purpurbakterien mit Schwefelkörperchen (Bot. Ztg 1906, Jg. 64, p. 223.)
- , XII. Die Kieselzellen in der Steinschale der Steinnuß (Phytolophus) (Zentralorgan f. Warenkunde u. Technologie 1890, II. 3. Verlag v. F. Kraus in Stuttgart.)
- , XIII. Eine merkwürdige Form von Kieselzellen bei *Calathea Seemannii*. (Sitzungsber. d. zool.-bot. Ges. in Wien 1887, Bd. XXXVII, I. Mai)
- , XIV. Über Kohlensäureassimilationsversuche mittels der Leuchtbakterienmethode. (Bot. Ztg. 1901, Jahrg. 62, p. 1.)
- , XV. Leuchtende Pflanzen. Jena 1912, 2. Aufl.
- , XVI. Über den mikrochemischen Nachweis von Nitraten und Nitriten in der Pflanze mittels Diphenylamin oder Brucin. (Ber. d. D. bot. Ges. 1883, Bd. I)
- , XVII. Über einige Beziehungen zwischen anorganischen Stickstoffsalzen und der Pflanze. (Sitzber. d. Kais. Akad. d. Wiss. in Wien 1887, Bd. XCIV, I. Abt.)
- , XVIII. Beitr. z. Mikroch. Nr. 4: Über organische Kalkkugeln und über Kieselkörper bei *Capparis*. (Ber. d. Deutsch. bot. Ges. 1910, Bd. XXXIV, p. 154.)
- , XIX. Beitr. z. Mikroch. Nr. 6: Über den Nachweis von Kalk mit Kalilauge und kohlensaurem Kali. (Ebenda, p. 357.)
- , XX. Beitr. z. Mikroch. Nr. 5: Über den Nachweis von gelösten Kalkverbindungen mit Soda. (Ebenda, p. 288.)
- , XXI. Ebenda. Über Kieselkörper in der Epidermis von *Campelia Zanonia* Rich. (Ebenda 1918, p. 277.)
- , XXII. Ebenda. Die Riesenkieselkörper im Blatte von *Arundo donax*. (Ebenda 1918, p. 474.)
- , XXIII. Ebenda. Über das Verhalten der Cystolithen gegen Silber- und andere Metallsalze. (Ebenda 1918, p. 474.)
- , XXIV. Über die angebliche Entwicklung von Wasserstoffsuperoxyd bei der Kohlensäureassimilation. (Biochem. Ztschr 1921, Bd. CXXV, p. 257-261)
- Monteverde, N. A., I. Über die Ablagerung von Calcium- und Magnesium-Oxalat in der Pflanze. Petersburg 1889. (Refer. Bot. Zbl. 1990, Bd. XLIII, p. 327)
- , II. Über Kristallablagerungen bei den Marattiaceen. (Arb. d. St. Petersburger Naturf. Ges. 1886, Bd. XVII, p. 33. Refer. Bot. Zbl. 1887, Bd. XLIX, p. 358)
- , III. Über Verbreitung und Verteilung des Salpeters in der Pflanze usw. (Naturf. Ges. zu St. Petersburg 1882, Bd. VII, Teil II)
- Müller, C., I. Kritische Untersuchungen über den Nachweis von maskiertem Eisen in der Pflanze usw. (Ber. d. Deutsch. bot. Ges. 1893, Bd. XI, p. 252)
- , II. C., I Über die Entstehung von Kalkoxalatkristallen in pflanzlichen Zellmembranen. Prag 1890.
- Nathanson, A., I. Über eine neue Gruppe von Schwefelbakterien und ihren Stoffwechsel. (Mittell. d. zool. Station zu Neapel 1902, Bd. XV, p. 655.)
- Naumann, E., I. Fenol som Karmiedel. (Bot. Notiser, 1916, p. 197)
- Nestler, A., I. Zur Kenntnis der Wasserausscheidung an den Blättern von *Phaeolus multiflorus* Wild. u. *Boehmeria*. (Sitzungsber. d. Kais. Akad. d. Wiss. in Wien 1899, Bd. CVIII, Abt. I, p. 704)
- Netolitzky, F., I. Verkieselungen bei den Rubiaceae-Galicace. (Österr. bot. Zeitschr. 1911, 61. Jahrg., p. 409.)
- , II. Kieselmembranen der Dicotyledonenblätter Mitteleuropas. (Ebenda 1912, 62. Jahrg., p. 363.)
- , III. Die Oxalkristalle von *Quillaja saponaria* L. (Pharm. Post 1919.)
- Nickel, E., I. Die Farbungsreaktionen der Kohlenstoffverbindungen. Berlin 1890, p. 95.

- Oosterhout, W. J. V., I. Plants which require Sodium (Bot. Gaz. 1912.)
- Payon, I. Comptes rend. 1856, T. XLIII, p. 769.
- Peklo, J., I. Über eine manganspeichernde Meeresdiatomee. (Österr. bot. Zeitschr. 1909, Nr. 8.)
- Pollet et Fribourg, I. De l'amine dans les plantes. (Annal scienc agron. franc. et étrangère 1907, 3. sér., T. II, p. 323--480.)
- Pichard, P., I. Comptes rend. 1898, Bd. CXXVI, p. 530.
- Pierro, I. Annales agron. T. II, p. 59.
- Pfeffer, W., I. Untersuchungen über die Proteinkörner usw (Jahrb f wiss. Bot 1872, Bd VIII.)
- Pollacci, G., I. Sulla distribuzione del fosforo nei tessuti vegetali. (Malpighia 1891, Vol. VIII, p. 361; Ref. Z. f. wiss. Mikroskopie, Bd. XI, p. 539.)
- , II. Atti dell' istituto bot. dell' Univers di Pavia 1900, 2. ser, Vol VI, p. 15.
- , III. Intorno al miglior metodo di ricerca microchimica del fosforo nei tessuti vegetali (Ebenda 1901, Vol. X, p. 16.)
- Raciborski, M., I. Referat über die Arbeit Lilienfelds und Montis. (Bot. Ztg 1893, Jahrg 51, 2. Abt, p. 215.)
- , II. Einige Chemomorphosen des Aspergillus niger. (Bull de l'Acad d. scienc. de Cracovie. Décembre 1905, p. 766.)
- Radlkofer, L., I. Über Tonerdekörper in Pflanzenzellen (Ber d. Deutsch. bot. Ges. 1904, Bd. XXII, p. 216.)
- Re, L., I. Annuar Real. Instit. bot. Roma 1894, Vol. V, p. 38.
- Régnaud, I. Comptes rend 1885, Vol. CI, p. 1293.
- Richter, O., I. Untersuchungen über das Magnesium und seine Beziehungen zur Pflanze I. Teil (Sitzungsber. d. Kais Akad d. Wiss in Wien 1902, Bd CXI, p. 171.)
- , II. Zur Physiologie der Diatomeen II. Mitteil. (Denkschr. d. Kais Akad. d. Wiss in Wien 1909, Bd. LXXXIV, p. 666, ferner Sitzungsber. d. Kais Akad d. Wiss in Wien 1909, Bd. CXVIII, p. 1337.)
- , III. Die Ernährung der Algen. (Intern Revue d. ges. Hydrobiologie u. Hydrographie 1911, Bd II.)
- , IV. Zur Physiologie der Diatomeen. III. Mitteil. Über die Notwendigkeit des Natriums für braune Meeresdiatomeen (Sitzungsber. d. Kais Akad d. Wiss in Wien 1909, Bd. CXVIII, Abt. I, p. 1337.)
- Robertson, D., I. Bonnemaisonia asparagoides C. Ag., that gave a blue stain to paper. (Proceed. and Transactions of the nat. hist. soc. of Glasgow Vol IV [new series] read 1894.)
- Rodier, E., I. Sur la formation et la nature des sphaerocristaux. (Comptes rend 1889, T. CVIII, p. 906.)
- Rothert, W., I. Das Verhalten der Pflanzen gegenüber dem Aluminium. (Bot. Ztg. 1906, 61 Jg., p. 43.)
- Schaarschmidt, J., I. Über die Sphärokrystalle von Galanthus nivalis, Echinopsis oxygens und der Euphorbien (M. N. L. Kolozvár 1881, 8. Jahrg., p. 162 -168. Refer. i. Justs bot. Jahrb. 1884, Bd. I, p. 225.)
- Schimper, A. F. W., I. Zur Frage nach der Assimilation der Mineralsalze durch die grüne Pflanze. (Flora 1890.)
- , II. Über Kalkoxalatbildung in den Laubblättern. (Bot. Ztg 1888.)
- Scott, F. H., I. On Methods supposed to localize Phosphorus in cells. (Journ. of Physiol. 1897, Vol. XXV, p. 119.)
- Schtscherback, I. Über die Salzausscheidung durch die Blätter von Statice Gmelini. (Ber. d. Deutsch. bot. Ges. 1919, p. 30.)

- Smith, H. G., I. Aluminium the chief inorganic Element in a Proteaceous Tree etc. (The Chem. News 1903, Vol. LXXXVIII, p. 135.)
- Solareder, H., I. Systematische Anatomie der Dicotyledonen. Stuttgart 1899.
- Soltsien, P., I. Pharm. Ztg. 1906, p. 765.
- Szűcs, I. Über einige charakteristische Wirkungen des Aluminiumions auf das Protoplasma. (Jahrb. f. wiss. bot. 1913, Bd. LII, p. 260.)
- Thoms, G., I. Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 1877, p. 2234; ferner Liebig-Kopp, Jahresber. über d. Fortschr. d. Chemie 1879, p. 937 u. Landw. Versuchsstat. 1879, Bd. XXIII, p. 413.
- Tunmann, I. Über das Jod und den Nachweis desselben in der Laminaria (Pharm. Zentralhalle 1907, Bd. XLVIII, p. 505; Refer. i. Jahrb. d. Pharmazie 1907, Jahrg. 42.)
- Vater, H., I. Mikroskop. Studien über die Kristallisation des Gipses. Versuche von O. Maschke, mitgeteilt von H. Vater. (Zeitschr. f. Kristallographie 1900, Bd. XXXVIII, 1. Heft)
- Visser, H. L., I. „Nitron“ als mikrochem. Reagens. (Chem. Zbl. 1907, Jahrg. 78 [5. Folge, 2. Jahrg.], Bd. I, p. 302.)
- Warming, E., I. Aftryk af Videnskabelige Meddelelser fra den naturhistoriske Forening: Kjøbenhavn 1891. „Kiselsyre danneres hos Podostemonaceae.“
- Weevers, Th., I. Untersuchungen über die Lokalisation und Funktion des Kaliums in der Pflanze. (Recueil des Travaux bot. Néerlandais 1911, Vol VIII, p. 289.)
- , II, Das Vorkommen des Ammoniaks und der Ammonsalze in den Pflanzen (Extrait du recueil des Travaux botaniques Néerlandais 1916, Vol VIII, Livre II, p. 63.)
- Wehnert, I. Anatomisch-systematische Untersuchung der Blätter der Gattung Symplocos. (Diss. München 1906.)
- Weiß, A. und Wiesner, J., I. Vorläufige Notiz über die direkte Nachweisung des Eisens in den Zellen der Pflanze. (Sitzungsber. d. Kais. Akad. d. Wiss. in Wien 1890, Bd. XL, p. 276—278.)
- Wiener, Adelo, I. Beitrag zum mikrochem. Nachweis des Eisens in der Pflanze, insbesondere des „maskierten“. (Biochem. Zeitschr. 1916, Bd. LXXVII, p. 27.)
- Wiesner, J., I. Über den mikroskopischen Nachweis der Kohle in ihren verschiedenen Formen usw. (Sitzungsber. d. Kais. Akad. d. Wiss. in Wien 1892, Bd. CL, p. 379.)
- Willstätter, R., I. Zur Kenntnis der Zusammensetzung des Chlorophylls. (Liebigs Annal. d. Chemie, Bd. XXXI, p. 57.)
- Winogradski, S., I. Über Schwefelbakterien. (Bot. Ztg. 1887, 45. Jahrg.)
- , II. Beitrag zur Morphologie und Physiologie der Bakterien. Heft I. Zur Morphologie und Physiologie der Schwefelbakterien. Leipzig 1888.
- Yohuda und Eto, T., I. J. Coll. Agric. Tokyo d. Pharm. Weekbl. 1914, p. 113.
- Zacharias, E., I. Die chemische Beschaffenheit von Protoplasma und Zellkern. (Progressus rei bot. 1910, Bd. III, p. 67, Jena.)
- Zimmermann, A., I. Die botanische Mikrotechnik. Tübingen 1892
- , II. Beiträge zur Morphologie und Physiologie der Pflanzenzelle Heft II. Tübingen 1891.

## B.

# Organischer Teil.

## a) Fettreihe.

### I. Alkohole.

Dulcit,  $C_6H_{14}O_6$ .

**Nachweis.** Wenn man nach BORODIN (I) Schnitte von *Melampyrum nemorosum* mit Alkohol behandelt und diesen dann unterm Deckglas langsam verdampfen läßt, so kristallisiert Dulcit in relativ großen prismatischen Kristallen aus, die Salpeter- und Asparaginkristallen ähneln. Sie können aber von diesen unterschieden werden 1. durch ihre Unlöslichkeit in einer gesättigten Dulcitlösung und 2. dadurch, daß sie sich beim Erwärmen auf  $190^\circ$  in eine blasige dunkelbraune Masse umwandeln. Herbarmaterial untersuchte BORODIN in der Weise, daß er die zerriebenen Blätter mit verdünntem Alkohol kochte und den filtrierten Extrakt dann verdunsten ließ, oder indem er die Blätter mit sehr wenig Wasser aufweichte und dann wie frische behandelte.

Später hat MONTVERDE (I) nach derselben Methode Pflanzen auf Dulcit und Mannit untersucht. Überdies wurde Herbarmaterial in zerkleinerten Stücken mit wenig 95proz. Alkohol in der Eprouvette gekocht, der Extrakt auf einem Uhrgläschen verdunsten gelassen und der kristallmische Niederschlag mikroskopisch mit einer gesättigten Dulcit- resp. Mannitlösung geprüft.

Anstatt Alkohol kann nach meinen Erfahrungen mit Vorteil auch Glycerin verwendet werden, um Dulcit in Schnitten zum Auskristallisieren zu bringen. Werden nicht zu dünne Schnitte der eben austreibenden Stengel von *Evonymus japonicus* in einen Tropfen Glycerin gebracht und mit dem Deckglas bedeckt, so erscheint nach ein bis mehreren Tagen der Dulcit in großen Einzelkristallen oder in klumpigen Drusen (Fig. 36) in der Kambial- oder Markgegend.

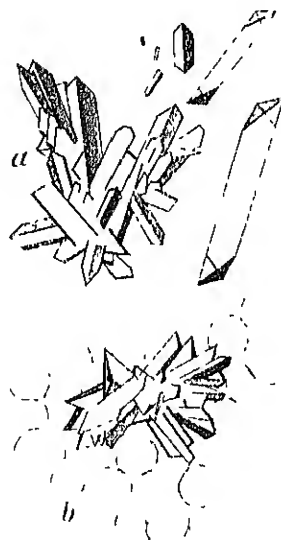


Fig. 36

- Kristalle von Dulcit  
 a Kristalldruse und Einzelkristalle aus wässriger Lösung. Vergr. 180.  
 b Kristalldruse im Stengelrindenparenchym von *Evonymus japonicus* Glycerinpräparat. Vergr. 105.



**Eigenschaften.** Farblose, glänzende, durchsichtige monokline Säulen (Fig. 36), löslich in Wasser, wenig löslich in Alkohol, unlöslich in Äther.

**Vorkommen<sup>1)</sup>:**

im Kraute von *Melampyrum nemorosum*, *M. pratense*, *M. silvaticum*, in 11 Spezies von *Evonymus*, in 3 von *Celastrus*, in einer *Schaefferia* und in einer aus Madagaskar bezogenen Manna unbekannter Herkunft. In *Alectorolophus major* und *Scrophularia nodosa* kommt er entgegen früheren Angaben EICHLEERS nach BORODIN (I) nicht vor.

Der mit dem Dulcit und Mannit isomere Sorbit läßt sich mikrochemisch nur sehr schwer nachweisen (TUNMANN II), weshalb ich nicht näher darauf eingehe.

**Mannit,  $C_6H_{14}O_6$ .**

**Nachweis.** Mannit kann aus Gewebeschnitten in ähnlicher Weise zum Auskristallisieren gebracht werden wie der isomere Dulcit. Schnitte

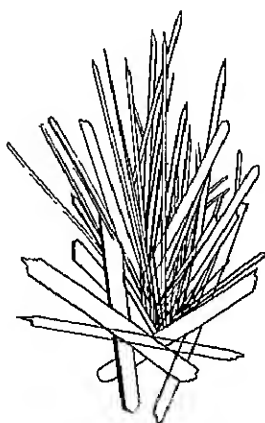


Fig. 37.

Mannitkristalle aus  
Schnitten durch die Knolle  
von *Apium graveolens*.  
Vergr. 105.

durch die Knolle von *Apium graveolens* werden in einen Tropfen Alkohol gebracht und mit dem Deckglas bedeckt. Der Alkohol verdampft und am Rande bleibt etwas sirupöse Masse, aus der nach 1—2 Tagen die orthorhombischen, zumeist strahlig angeordneten, derben Nadeln oder Säulen (Fig. 37) des Mannits auskristallisieren. Sie sind löslich in Wasser und Anilin, wenig in Alkohol und unlöslich in Äther und Glycerin.

TUNMANN (II) empfiehlt bei verschiedenen Objekten die Schnitte unter Deckglas in Alkohol aufzukochen. Er konnte auch Mannit aus der Handelsmanna und den fein zerschnittenen Blättern und der Rinde der Mannaesche in Form von Kristallen sublimieren. Durch Kombination der Alkoholmethode mit der Sublimation erhält man besonders reine Kristalle.

Wenn man die Knospen von *Syringa vulgaris* im Herbst nach dem Laubfall und im Winter durch einen quer zur Längsachse gerichteten Schnitt halbiert, so treten aus den Gefäßblündern der Knospenschuppen und der Blütenanlagen nach kurzer Zeit Tröpfchen hervor, die sich im Laufe der nächsten Stunden vergrößern und schließlich oft zu einem einzigen großen, wasserklaren Safttropfen zusammenfließen, der die ganze Schnittfläche kuppenförmig bedeckt. Der Tropfen verwandelt sich beim Eintrocknen in einen schneeweißen, aus Mannitkristallen bestehenden Brei (MOLISCH I).

**Vorkommen.**

Ein im Pflanzenreiche ziemlich verbreiteter Körper, besonders in der Familie der Oleaceen und Umbelliferen. In den Blättern und Knospen von *Syringa vulgaris*

<sup>1)</sup> Es sei ein für allemal bemerkt, daß die angeführten Vorkommnisse über Pflanzenstoffe, falls nicht die Originalquellen zitiert sind, den zusammenfassenden Werken entlehnt sind: ABRIEHALDEN, E., *Biochemisches Handlexikon*, Berlin 1910/11; CZAPPEK, P., *Biochemie der Pflanzen*, Jena 1913—21; HUSEMANN-HILGER, *die Pflanzenstoffe*. 2 Bände. 2. Aufl., Berlin 1882 u. WENNER, C., *die Pflanzenstoffe*, Jena 1911.

L., in den Blättern von *Fraxinus excelsior* L., *Apium graveolens* L., *Aethusa cynapium*, *Cocos nucifera* L., in den Wurzeln von *Aconitum Napellus* L., *Apium graveolens* L., *Momum athamanticum* JACQZ., *Oenanthe crocata* L., *Polypodium vulgare* L., *Daucus Carota* L., *Scorzonera hispanica* L., *Triticum repens* L., *Cyclamen europaeum* L., *Punica Granatum* L., in der Rinde von *Canella alba* MURR., *Fraxinus excelsior* L., *F. Ornus* L., *Phillyrea latifolia* L., *Ligustrum vulgare* L., *Jasminum officinale* L. und *J. nudiflorum* LINDL., in den Früchten von *Laurus Persea* L., von *Cactus Opuntia*, *Ananas sativus* SCHULT., in den Kaffeebohnen, in den Oliven, im Saft vom Zuckerrohr, in *Laminaria saccharina* und zahlreichen anderen *Fucoiden*, in *Agaricus campestris*, *A. integer*, *Penicillium glaucum*, *Lycoperdon conium*, ja man kann sagen, daß Mannit bei den höheren Pilzen zu den allgemein verbreiteten Stoffen gehört (ZELLNER I, 91).

## II. Säuren.

Die Methoden über den mikrochemischen Nachweis organischer Säuren im Gewebe liegen noch sehr im Argen. Zwar verfügen wir schon über manche, recht gute Proben zum Nachweis einiger organischer Säuren, wenn es gilt, sie in relativ reinen Lösungstropfen aufzufinden und wenn sie in größeren Mengen vorhanden sind, allein in Geweben liegen die Sachen doch anders, da hier gewöhnlich nur verdünnte Lösungen, begleitet von anderen Körpern, vorkommen, die die Reaktion eventuell stören. So gehen die von HAUSSHOFFER (I) und BEHRENS (I) vorgeschlagenen Verfahren z. B. zum Nachweis von Apfelsäure und Zitronensäure bei Untersuchung von Lösungstropfen nicht selten gute Resultate, allein bei der Anwendung von Safttropfen und Geweben der Pflanzen erhält man keine oder zweifelhafte Ergebnisse, weshalb ich die beiden genannten Säuren und andere nicht behandeln werde.

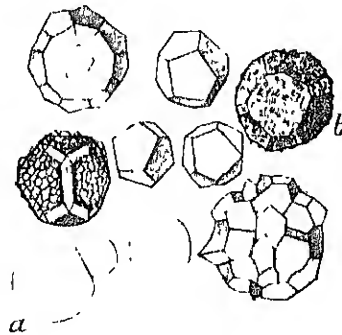


Fig 38  
Kristalle von Ceriformiat  
Vergr. 180

TUNMANN (II) hat sich bemüht, auch für Apfelsäure, Zitronensäure und Sorbinsäure mikrochemische Methoden auszuarbeiten, da aber diese, wie er selbst hervorhebt, noch in manchen Beziehungen der Sicherheit entbehren, so will ich nicht näher darauf eingehen.

## Ameisensäure.

### Nachweis.

1. Mit Ceronitrat. Der genaueste und sicherste Nachweis der Ameisensäure beruht auf der Fällung als Ceriumformiat. Die salpetersauren Salze der Ceritmetalle (Ce, La, Di) geben nach BEHRENS (I, 21) mit schwach sauren Lösungen von Formiaten sehr charakteristische Kristalle. In dem unbedeckten Versuchstropfen bilden sich nach kurzer Zeit zunächst am Rande scheibenförmige, radiaalfaserige Aggregate (a) mit negativem Polarisationskreuz und dann gegen das Innere zu große, am Objektglas haftende, dem Pentagondodekaeder gleichende Kristalle

(Fig. 38). „Ihr optisches Verhalten und gewöhnlich auch ihre Flächenbeschaffenheit läßt erkennen, daß sie mimetisch gebildet und aus vielen kleinen prismatischen Kristallen zusammengesetzt sind, welche parallel der Prismenachse auslöschten“ (HAUSHOFFER I, p. 46). Die Pentagondodekaeder sind zunächst klar und farblos, später werden sie durch Aufwachsen von Kriställchen auf den Flächen trübe und weiß (b). Freie Säuren können stören. Freie Salpetersäure und Salzsäure werden durch Magnesiumacetat ausgeschaltet und freie Ameisensäure kann durch Magnesiumoxyd gebunden werden. Durch Erwärmen auf 40 bis 50° wird die Kristallbildung beschleunigt.

Ich habe mich bemüht, diese an und für sich vortreffliche Reaktion auch auf die Pflanze, und zwar auf Schnitte und ausgepreßte Safttropfen, anzuwenden, allein ohne Erfolg. Schnitte durch die Blätter und Stengel von *Urtica dioica*, Blätter von *Abies pectinata* und Wurzeln verschiedener Pflanzen geben niemals die erwähnten Pentagondodekaeder, wahrscheinlich weil die Reaktion zu wenig empfindlich ist.

2. Mit Sublimat wies CZAPEK (I) Ameisensäure mikrochemisch im Wurzelsekret nach. Er gibt zu dem eingeeengten Wurzelwasser Sublimat, erwärmt auf 70 bis 80° und erhält einen weißen Niederschlag, der in Salzsäure unlöslich ist und aus kleinen Würfeln besteht, die er für Kalomel hält. STOKLASA und ERNST (I) konnten im Wurzelsekret makrochemisch Ameisensäure nicht nachweisen.

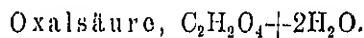
Um Formiat in lebenden Wurzelzellen nachzuweisen, benützt CZAPEK gleichfalls die Reduktion von Quecksilberchlorid durch Formiate zu Quecksilberchlorür. Diese Reaktion kommt zwar auch der schwefligen, phosphorigen und unterphosphorigen Säure zu, allein diese Säuren werden, da sie in der Pflanze nicht vorkommen, nicht stören. „Die Wurzeln wurden in ganzen Stücken in verdünnter Sublimatlösung (konz. Lösung auf das 5- bis 10fache verdünnt) auf dem Wasserbad 1 bis 2 Stunden lang erhitzt. Sodann wurden sie zuerst mit reinem Wasser, dann mit salzsäurehaltigem Wasser sorgfältig ausgewaschen, um das überschüssige Sublimat und etwa vorhandene, in Salzsäure lösliche Quecksilberniederschläge zu entfernen. Dann wurden sie auf einige Minuten in gelind erwärmte, 1proz. Kalilauge getaucht, und in den formiathaltigen Teilen trat sofort Schwärzung ein.“ Die Wurzelspitzen waren schon makroskopisch tief schwarz gefärbt. Der eigentliche Sitz der Schwärzung war das Plerom und die Epidermis, hingegen war die Region mit bereits fertig ausgebildeten Gefäßen frei von schwarzem Niederschlag.

Wäre diese Reduktion zu metallischem Quecksilber, wie CZAPEK meint, wirklich eindeutig, so wäre dieses Verfahren sehr wertvoll. Leider habe ich die Überzeugung gewonnen, daß dies nicht der Fall ist, da andere Substanzen in den Geweben der Pflanze ebenfalls die Reduktion des Sublimats zu metallischem Quecksilber bewirken können. Wenn man z. B. die junge Wurzel oder das Epikotyl des Keimlings von *Phaseolus multiflorus*  $\frac{1}{2}$  Stunde in destilliertem Wasser kocht und in viel Wasser wäscht, so müssen die Formiate, da sie alle im Wasser löslich sind, dadurch aus dem Gewebe entfernt werden. Unterwirft man nun diese ameisensäurefreien Objekte dem CZAPEKschen Verfahren, so tritt die Schwärzung zwar geschwächt, aber doch noch so deutlich

auf, daß schon makroskopisch ein bleigrauer Farbenton wahrzunehmen ist. Viele Elemente erscheinen von schwarzen Quecksilberkörnchen erfüllt. Diese Schwärzung kann nicht von Ameisensäure herrühren. Vielleicht wird sie durch Aldehyde, durch Gerbstoffe, Aminosäuren oder durch andere Substanzen hervorgerufen. So kommen wir leider zu dem Ergebnis, daß wir derzeit kein brauchbares verlässliches Reagens zum direkten mikroskopischen Nachweis der Ameisensäure in der Pflanze besitzen.

#### Vorkommen.

Es ist von BERGMANN (I) die Meinung ausgesprochen worden, daß die Ameisensäure (und Essigsäure) sich als Bestandteile des Protoplasmas durch das ganze Pflanzenreich verbreitet vorfinden. Ob dem wirklich so ist oder ob nicht vielleicht doch die Ameisensäure erst postmortal infolge der Einwirkung gewisser Reagentien entstanden ist, bleibt für die einzelnen Fälle zu untersuchen. — Als Objekte, die nach verschiedenen Autoren Ameisensäure enthalten, sind zu nennen. *Vaucheria*, *Aethalium septicum*, *Sempervivum toctorum* (Saft), *Abies pectinata* (Blatt), *Ceratonia Siliqua* (Frucht), *Sapindus saponaria* (Frucht), *Tamarindus indica* (Frucht), *Urtica urons* und *U. dioica* (Saft).



#### Nachweis.

1. Mit Calciumnitrat wird die Oxalsäure und ihre im Wasser löslichen Salze als Calciumoxalat in Form kleiner Kriställchen gefällt, bezüglich welcher man die Fig. 13 und den Text auf p. 50 vergleichen möge.

Wird ein Schnitt durch den Blattstiel von *Begonia vitifolia*, *manicata* oder *Rex* mit Calciumnitrat behandelt, so tritt sofort ein oft schon makroskopisch sichtbarer weißer Niederschlag auf, der aus feinen Körnchen besteht, zwischen denen sich häufig deutliche Kristallformen des Kalkoxalates vorfinden. Diese sind dann nach der auf p. 51 angegebenen Weise weiter zu prüfen.

2. Die Fällung der Oxalsäure als Strontiumoxalat mittels Strontiumnitrat ist gleichfalls für Pflanzenschnitte verwertbar. Die Kriställchen des Strontiumoxalates bestehen aus meist kleinen Pyramiden von quadratischer Basis und aus Kombinationen des Prismas mit der Pyramide.

3. Mit Silbernitrat geben nach BEHRENS (II, 41) neutrale oder mit Essigsäure angesäuerte Lösungen von Oxalsäure oder löslichen Salzen sogleich einen Niederschlag von Silberoxalat. Die Kristalle

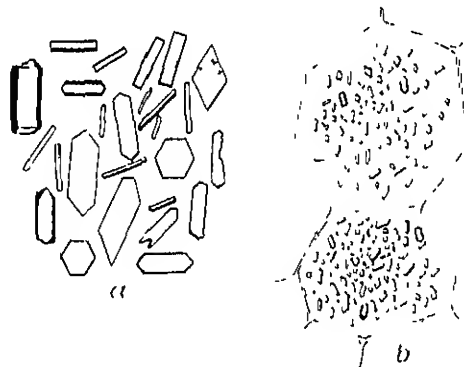


Fig. 39

Kristalle von Silberoxalat.

- a Aus einer Oxalsäurelösung Vergr. 400.  
b Markzellen von *Begonia vitifolia* mit Silberoxalatkristallen. Vergr. 180.

sind recht charakteristisch (Fig. 39). Es sind farblose sechsseitige Stäbchen oder Plättchen, ferner Rauten mit einem spitzen Winkel von  $58^{\circ}$ . Die sechsseitigen Tüfelchen gehen aus den rhombischen durch Abstumpfung der spitzen Ecke des Rhombus hervor. Die Auslöschung ist nach BEHRENS in den Rauten diagonal, in den Prismen axial. Ich habe diese Probe brauchbarer gefunden als die Probe 1, da die Kristalle deutlich ausgebildet sind und auch ziemlich lokal entstehen.

Vor kurzem hat MORSE (VI) einige neue mikrochemische Proben 4 - 7 zum Nachweis gelöster Oxalate in der Pflanze eingeführt, über die hier noch kurz berichtet werden soll.

4. Fällung mit gesättigter alkoholischer Natronlauge. Wird ein Tröpfchen einer verdünnten, etwa 3—5proz. Lösung von freier Oxalsäure mit einem

großen Tropfen einer gesättigten Natronlauge-Lösung in 96proz. Alkohol auf dem Objektträger durch das aufgelegte Deckglas vermischt, so entsteht sofort ein weißer, kristallinischer Niederschlag, bestehend aus Nadelchen, Doppelpünkseln, Sternen und Dendriten. So wie die freie Oxalsäure verhalten sich auch die leicht löslichen Oxalate.

Wird ein Schnitt durch den Blattstiel von *Begonia vitifolia* oder einer anderen *Begonia*-Art mit der alkoholischen Natronlauge behandelt, so tritt sofort der kristallinische Niederschlag in den Zellen auf. Das Parenchym erscheint dann mit den erwähnten Kristallen wie besetzt (Fig. 40).

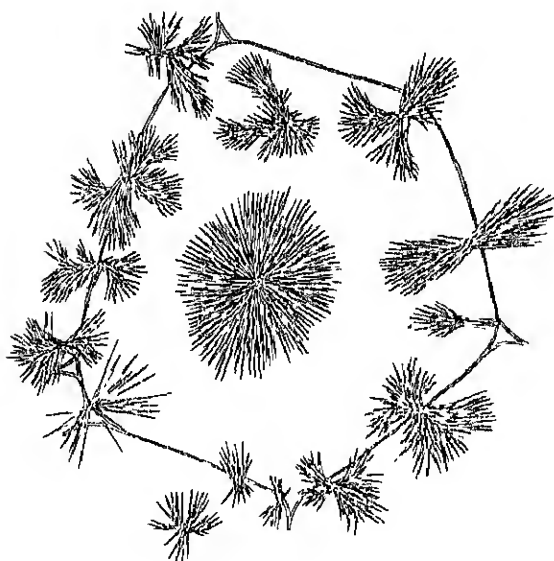


Fig. 40.

*Begonia vitifolia*. Blattstielparenchymzelle mit Sternen von Natriumoxalatkristallnadeln. Diese entstehen durch Einwirkung gesättigter Natronlauge in 90%igem Alkohol.

Diese Reaktion ist nur dann für Oxalsäure eindeutig, wenn der beschriebene Niederschlag sofort oder im Laufe einer Stunde entsteht, da später im Gewebeschnitt lange Nadeln oder Büschel von solchen herausfallen, deren Natur noch nicht aufgeklärt ist.

5. Gesättigte alkoholische Kalilauge-Lösung gibt gleichfalls mit Oxalsäure oder leicht löslichen Oxalaten einen reichlichen Niederschlag, bestehend aus recht großen Kristallen von Kalioxalat, federige oder treppenartige Sprosse, Rauten, vierkantige Prismen und Aggregate solcher sind vorherrschend.

6. Bleiazetat in 1—20proz. wässriger Lösung ruft auf einem Schnitt durch den Blattstiel von *Begonia vitifolia* fast augenblicklich einen weißen Niederschlag von Nadelchen oder Dendriten hervor, die nach einigen Stunden eine all-

mähliche Umlagerung in große, schön ausgebildete rhombische Kristalle, häufig von Briefkonvertform erfahren, die das Licht so stark brechen, daß sie an den Rändern dunkel bis schwarz erscheinen.

7. Bariumchlorid. Eine 5–20proz. Lösung von Chlorbarium mit einem Tröpfchen einer 2proz. Lösung von Kaliovalat zusammengebracht, gibt sofort eine weiße körnige oder feinkristallinische Fällung, die sich bald in große federige oder sternartige Dendriten umwandelt. Bei Verwendung freier (5proz.) Oxalsäure entsteht nicht sofort ein weißer Niederschlag, aber schon nach einigen Minuten erscheinen zigarrenartige, längsgerichelte Formen, an den Enden schiefbegrenzte schmale Prismen, Sterne, Warzen, Doppelpinsel und Schollen. Die letzteren sehen infolge ihrer Strichelung so aus, als ob sie angeätzt wären (Fig. 41a).

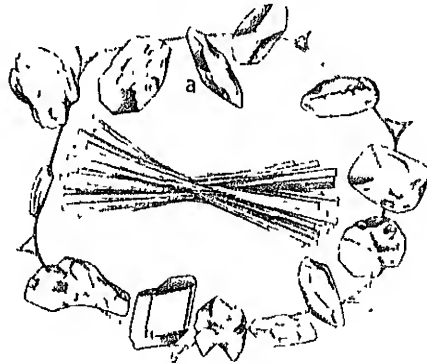


Fig. 41

*Begonia vitifolia* Stengelparenchymzelle mit Kristallen von Bariumoxalat, erhalten mit Bariumchlorid. Vergr. 280

#### Vorkommen

Die Oxalsäure findet sich, wie bereits auf p. 50 dargelegt wurde, in der Pflanze als Kalkoxalat ungemein häufig vor. Bei vielen Pflanzen auch in Form leicht löslicher Oxalate, vielleicht auch in Form freier Oxalsäure, obwohl ein Beweis für das Auftreten von freier Oxalsäure bisher nicht erbracht wurde.

Ein Gemenge von Oxalsäure, Essigsäure und Apfelsäure sollen die Haare von *Croci arietinum* ausscheiden, doch geht diese Literaturangabe bis auf Dr. CANDOLIS Pflanzenphysiologie (übersetzt von RORER, 1833, Bd. I, p. 190) zurück und ist meines Wissens in neuerer Zeit nicht überprüft worden.

Lösliche Oxalate hingegen sind nicht selten. Bei *Salsola*- und *Sarcocolla*-Arten kommt es als Natriumsalz, bei *Oxalis*-, *Rumex*-, *Rheum*- und *Begonia*-Arten, bei *Atropa Belladonna* und im Wurzelssekret von *Hyacinthus orientalis* (CZAJEK I, 341) als Kaliumsalz (Kleesalz) vor.

Ausgerüstet mit den geschilderten Reaktionen hat MOISEW (VI) etwa 240 Pflanzenarten auf lösliche Oxalate geprüft und dabei hat sich herausgestellt, daß bei folgenden Familien die untersuchten Arten sehr viel von gelösten Oxalaten enthalten: Polygoneen, Chenopodiaceen, Amarantaceen, Aizoaceen, Begoniaceen, Melastomaceen, Oxalideen, Cannaceen und Marantaceen.

Wie STAHL (I) gezeigt hat, stellt das Kaliumbioxalat einen wirksamen Schutzstoff gegen Tierfraß dar und so wie manche andere Schutzsekrete im allgemeinen eine periphere Lagerung aufweisen, gilt dies nach den Untersuchungen von GIESLER (I) auch für die leicht löslichen Oxalate. Sie sind hauptsächlich in der Epidermis oder doch vorwiegend in den peripheren Geweben der vegetativen Organe lokalisiert. —

Weinsäure,  $C_4H_6O_6$ .

## Nachweis.

Mit Calciumacetat geben Lösungen von Weinsäure oder neutralen weinsäuren Salzen je nach der Konzentration sogleich oder nach einiger Zeit einen kristallinischen Niederschlag von Calciumtartrat  $C_4H_4O_6Ca + 4H_2O$ . Nach HAUSHOFER (I, 86) gehören die prächtig ausgebildeten Kristalle dem rhombischen System an und sind von recht verschiedener Gestalt (Fig. 42). Sie sind vorherrschend nach einem Prisma entwickelt, dessen spitzer Kantenwinkel  $80^\circ 24'$  beträgt. Die Kristallenden werden meist durch ein Doma abgeschlossen. Häufig findet man sechseckige oder trapezförmige Täfelchen, die aus Rauten durch Abstumpfung entstanden sind. Wenn sich die Kristalle unregelmäßig ausbilden, erhalten sie eine monokline Tracht oder das Aussehen von Rhomboedern. Aus konzentrierten Lösungen entstehen Zerrformen, ähnlich gewissen Kristallformen von Ammoniummagnesiumphosphat.

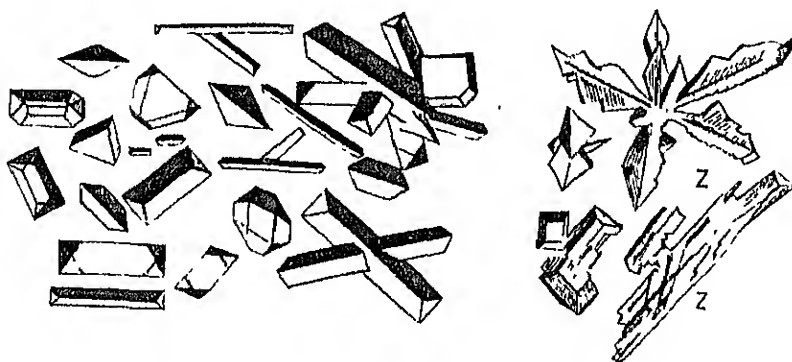


Fig. 42.

Kristalle von Calciumtartrat. Vergr. 400.

Die Calciumtartratkristalle sind wenig im Wasser, sehr leicht in Kalilauge, leicht in verdünnter Essigsäure (2%) und schwer löslich in konzentrierter Essigsäure. Die Auslöschungsrichtung der trapezförmigen Kristalle geht parallel zur Halbierungslinie des spitzen Winkels von  $57^\circ 30'$ .

Die Reaktion ist sehr brauchbar und leistet auch für den histochemischen Nachweis der Weinsäure gute Dienste, vorausgesetzt, daß nicht zu wenig von dieser Säure vorhanden ist. Ein ausgezeichnetes Schulobjekt bietet der Saft der Weinbeere dar. Wird ein Safttropfen mit einem Tropfen einer 20 proz. Calciumacetatlösung vermengt, so treten alsbald die Kristalle von Calciumtartrat in sehr großer Menge auf, desgleichen bei Zusatz von konzentrierter Essigsäure.

## Vorkommen.

Die Weinsäure genießt im Pflanzenreiche zweifellos eine weite Verbreitung. Sie wurde makrochemisch nachgewiesen bei: *Vitis silvestris* L. (Booren- und Blutungssaft), Früchten von *Rhus typhina* L. u. *R. glabra*, *Morus*, *Mahonia aquifolia*, *Tamarindus*, *Ananas*, *Piper nigrum*, *Cucumis sativus*, *Solanum Lycopersicum*, Knollen von *Solanum tuberosum*, *Helianthus tuberosus* und andern.

Nach SCHIMPER (I, 238) enthält der Zellsaft aller Zellen des Mesophylls, des Nervenparenchyms und der Oberhaut des Weinstockblattes auch gelöste Kalksalze in Form des Malats und des Tartrats. Kristallinisch ausgeschieden findet sich Kalktartrat in den vorliegenden Blättern von *Vitis vinifera*, *V. Labrusca* und *Ampelopsis* vor. Die Kristalle haben hier verschiedene Größe; von kleinen Körnchen (Mesophyll) bis zu großen wohlausgebildeten Formen (Rippen) finden sich viele Übergänge vor.

SCHIMPER erwähnt eine auf der ungleichen Löslichkeit der Kalktartratkristalle in verschieden konzentrierter Essigsäure beruhende Erscheinung: wird ein Schnitt vom Weinstockblatt in mäßig verdünnte Essigsäure (2 %) gebracht, so lösen sich die Kristalle in den Zellen zunächst teilweise auf und bei Steigerung der Konzentration der Essigsäure im Zellsaft beginnen die unvollständig gelösten Kristalle wieder zu wachsen.

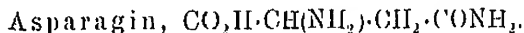
### Aminosäuren.

Säuren, in denen an Kohlenstoff befindlicher Wasserstoff durch die Aminogruppe ersetzt ist, werden als Aminosäuren bezeichnet. Sie weisen sowohl die Charaktere einer Säure als einer Base auf und geben daher nicht nur mit Säuren, sondern auch mit Basen Salze. Die Aminosäuren spielen beim Abbau und Aufbau der Eiweißkörper während der Reifung und Keimung des Samens und während des Austreibens der Holzgewächse eine sehr wichtige Rolle und häufen sich unter gewissen Umständen in ganz erstaunlichen Mengen an.

In der Pflanze hat man bisher von Aminosäuren der aliphatischen Reihe nachgewiesen: Asparagin, Asparaginsäure, Leucin, Glutamin, Glykokoll (Glycin), Arginin und Lysin. Von diesen sind aber bisher mikrochemisch in der Pflanze verlässlich nachweisbar Asparagin und angeblich auch Leucin.

Von RUHEMANN wurde das von ihm zuerst dargestellte Triketohydrindenhydrat oder Ninhydrin als Reagens auf  $\alpha$ -Aminosäuren erkannt. Sie befür selbst in großer Verdünnung beim Kochen mit Ninhydrin eine blaue Färbung. ANDERHOLDEN machte von dieser Reaktion bei Prüfung tierischer Flüssigkeiten Gebrauch indem er 0,1 g Ninhydrin in 30 ccm Wasser löste, 1—2 Tropfen zu 1 ccm der zu prüfenden Flüssigkeit hinzufügte und dann kochte. Glykokoll, Leucin, Glutaminsäure, Asparaginsäure, Phenylalanin, Histidin und Aminosäure gaben noch bei sehr großen Verdünnungen eine blaue Färbung.

LOWE (1) suchte die Reaktion in die botanische Mikrochemie einzuführen und arbeitete auch bei gewöhnlicher Temperatur. Schnitte durch ausgekeimte Maiskörner gaben die blaue Reaktion schon nach 1—2 Stunden und Schnitte von Lupinenkeimlingen verhalten sich ebenso, aber erst beim Erwärmen. Weitere Untersuchungen müssen zeigen, ob diese Probe der Diagnose auf bestimmte Aminosäuren dienen wird.



### Nachweis.

1. Mit Alkohol. Nach den Untersuchungen von PFEFFER (I, 533) läßt sich Asparagin, wenn es in größeren Mengen, wie dies bei Dunkelkeimlingen der Lupine oder anderer Papilionaceen der Fall ist, angehäuft ist, leicht nachweisen, wenn man nicht allzu dünne Schnitte, deren Zellen zum großen Teil ungeöffnet sind, in ein Uhrschälchen mit absolutem Alkohol einlegt und durch Hin- und Herschwenken das



Eindringen des Alkohols erleichtert, weil sonst zuviel Asparagin aus den Zellen herausdiffundiert. Bei längerer Einwirkung des Alkohols wird das Asparagin in charakteristischen Kristallen gefällt, oft in so großer Zahl, daß die Schnittfläche und ihre Umgebung mit Asparaginkristallen wie übersät erscheinen. Ist Asparagin in geringer Menge vorhanden, so gelingt der Nachweis in der angegebenen Weise oft nicht mehr, wohl aber, insofern man etwas dickere Schnitte auf den Objektträger bringt und dann Alkohol zutreten läßt.

Eingehende Untersuchungen über die Verbreitung des Asparagins, namentlich in abgeschnittenen austreibenden Zweigen verdanken wir BORODIN (II). Er verfährt in der Weise, daß er zahlreiche mikroskopische Schnitte auf dem Objektträger mit Alkohol betupft, mit dem Deckglas bedeckt und das Präparat erst ein paar Stunden später nach vollständigem Verdunsten des Alkohols untersucht. Das Asparagin schießt bei diesen Versuchen in zahlreichen Kristallen von verschiedener Größe und Form, teils an den Schnitten selbst oder in deren Umgebung, teils am Deckglasrande an. Selbstverständlich können bei dieser

Methodik auch andere Niederschläge entstehen, man muß daher behufs richtiger Diagnose auf die Eigenschaften der Asparaginkristalle achten.

Das Asparagin bildet farblose rhombische Prismen. Es ist in Wasser löslich und wird aus konzentrierten Lösungen durch Alkohol in zahlreichen oft sehr gut ausgebildeten Kristallen abgeschieden. Zu den häufigen Formen gehören rauteförmige Täfelchen mit einem spitzen Winkel von  $65^\circ$  (BEHRENS I, 96) und einem stumpfen Winkel von  $129^\circ 18'$  (ZIMMERMANN I, 80), durch diesen lassen sich die oft ähn-

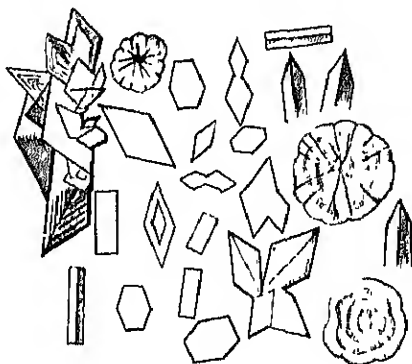


Fig. 43.

Kristalle von Asparagin aus dem Stengel eines etiolierten Keimlings von *Lupinus* sp. Vergr. 350.

lichen Kaliumnitratkristalle, bei denen er  $99^\circ 41'$  beträgt, leicht unterscheiden. Auch Sechsecke treten auf. Die Grundform stellt ein rhombisches Prisma dar, häufig mit sehr charakteristischen hemiedrischen Abstumpfungen der Kanten der Endflächen. Rhombische Sphenode und einfache oder mehrfache Durchkreuzungszwillinge kommen gleichfalls vor (Fig. 43). Sie zeigen alle schöne Polarisationsfarben, sind optisch positiv, und speziell die Kanten löschen parallel der langen Diagonale aus und zeigen in dieser Richtung Additionsfarben (KARICH I, 144). Die Kristalle sind unlöslich in Chloroform, Benzol, ätherischen Ölen und löslich in verdünnten Säuren.

Um nun diese Kristalle von anderen ähnlichen zu unterscheiden, empfiehlt BORODIN (II, 805) zwei Methoden. Die erste besteht darin, daß er den Niederschlag auf  $100^\circ \text{C}$  erwärmt, wobei sich der Kristall, sein Kristallwasser einbüßend, in ein helles homogenes, stark lichtbrechendes, wie Öl aussehendes Tröpfchen verwandelt, das sich aber in Wasser leicht löst und beim Eintrocknen wieder kristallisiertes Asparagin

liefert. Bei weiterer Erwärmung auf  $200^{\circ}\text{C}$  zersetzt sich das Asparagin und es entstehen braune schäumende Tropfen, die sich in Wasser nicht mehr lösen. Die zweite Methode — gewöhnlich als Boropinsche Methode bezeichnet — beruht darauf, die Kristalle in einer gesättigten Asparaginlösung zu prüfen, in der sich die Asparaginkristalle im Gegensatz zu anderen nicht lösen, vorausgesetzt, daß die Lösung nicht kälter als das zu prüfende Objekt ist. Speziell Salpeterkristalle wird man durch schwefelsaures Diphenylamin von Asparaginkristallen unterscheiden können, wenn man beachtet, daß die ersteren mit Diphenylamin eine blaue Färbung hervorrufen, die letzteren aber nicht (C. O. MÜLLER I).

Schon TH. HARTIG (I, 127) hat darauf aufmerksam gemacht, daß ausgepreßter asparaginhaltiger Saft wegen vorhandener anderer Substanzen oft keine Kristalle liefert, und LITGEß (II, 217) machte gleichfalls die Erfahrung, daß durch Gummi, Zucker, Glycerin und schleimige Substanzen das Auskristallisieren des Asparagins verhindert werden kann. So erhält man, wenn man Schnitte durch die Wurzelknolle von Dalia in der gewöhnlichen Weise mit Alkohol behandelt, keine oder nur höchst selten Asparaginkristalle, weil die sich rasch ausscheidenden Inulinsphärite und die anderen viskosen Bestandteile der Knolle die Kristallisation verhindern. Doch erhält man nach LITGEß auch hier ungemein reichliche Ausscheidung von Asparaginkristallen, sofern etwa 1 cm dicke, frische Querscheiben aus der Knolle in etwa 90proz. Alkohol eingelegt werden. Nach einigen Tagen bedecken sich dann die Schnittflächen mit oft schon makroskopisch sichtbaren Asparaginkristallen. Es bilden sich mehrlage Krusten von Inulin und über dieselben emporragend die Kristalle des Asparagins. Ich bemerke jedoch, daß in manchen Fällen, wo Asparagin in sehr großen Mengen auftritt, die Kristallisation auch in ausgepreßten Safttropfen erfolgt. Das ist bei den etohorten Stengeln von keimenden Lupinen der Fall. Ein aus dem Stengel ausgepreßter Tropfen zeigt am Rande oft nach kaum einer Minute die prachtvoll anscheinenden Rauten und Prismen des Asparagins zumeist in erstaunlicher Menge. Wer sich mit dem mikrochemischen Nachweis des Asparagins vertraut machen will, sei besonders auf dieses Objekt aufmerksam gemacht.

2. Bekanntlich gibt Asparagin mit Cuprisulfat eine in charakteristischen Kristallen auftretende blaue Kupferverbindung; aber schon PFEFFER (I, 535) erkannte, daß diese für den mikrochemischen Nachweis des Asparagins in Pflanzenschnitten nicht tauglich ist.

RACIBORSKI (I) hat Benzochinon als mikrochemisches Reagens zum Nachweis von Eiweiß, Pepton, Aminosäuren, Gerbstoffen und anderen Körpern zu verwerten versucht, allem er bemerkt selbst (I, 556), es sei ihm nicht gelungen, bei Anwesenheit von Peptonen und Eiweißstoffen Aminosäuren mikroskopisch sicher nachweisen zu können, da beide die Reaktion (Rotfärbung) geben.

#### Vorkommen.

Das Asparagin ist im Pflanzenreiche so weit verbreitet, daß man von einer speziellen Aufzählung von Pflanzen fuglich absehen kann. Es sei nur im allgemeinen hervorgehoben, daß es besonders als Abbauprodukt der Reserveproteine bei keimenden Samen, unterirdischen Reservestofforganen, treibenden Knospen und Trieben von Holzgewächsen oft in erstaunlichen Mengen auftritt.

Das Eiweiß baut sich in der Pflanze vornehmlich aus Kohlehydraten und Aminosäuren auf. Als Abbauprodukt der aufgestapelten Eiweißkörper wandern Aminosäuren in die jungen Pflanzenorgane und wenn — wie dies bei Dunkelkulturen der Fall ist — die Assimilation unterbunden ist und daher Zucker und Stärke nicht gebildet werden, so können Aminosäuren wegen mangelnder Kohlehydrate nicht zu Eiweiß restituiert werden, und daher häufen sich gewisse Aminosäuren, besonders Asparagin, oft in kolossaler Menge an. Bei jenen Pflanzen, die viel Zucker oder andere Kohlehydrate enthalten, wie z. B. bei der Küchenzwiebel (*Allium Cepa*) kommt es auch im Finstern zu reichlicher Eiweißsynthese und daher zu keiner Anhäufung von Asparagin.

BORODIN konnte zeigen, daß auch bei austreibenden Dunkelzweigen verschiedener Gehölze und Kräuter sich Asparagin sehr anhäufen kann, daß aber diese Anhäufung unterbleibt, wenn die abgeschnittenen Zweige in Lösungen von Traubenzucker, Rohrzucker oder Mannit eingestellt werden und dem Kohlehydratmangel auf diese Weise vorgebeugt wird.

Zahlreiche zahlenmäßige Belege über Asparaginhäufung in verschiedenen Pflanzen verdanken wir namentlich SCHULZE (I, II). Er fand in 10–12 cm langen Keimlingen von *Lupinus luteus* 20% der Trockensubstanz an Asparagin. Auch etiolierte Wickenkeimlinge strotzen von Asparagin. — In historischer Beziehung sei erwähnt, daß bereits TIT. HARTIG (I) durch Behandlung von Keimlingen und jungen Trieben der Holzgewächse mit Alkohol Kristalle erhalten hat, die er „Gleis“ nannte und die sicher zum großen Teile Asparagin waren. Es ist erstaunlich, wie richtig dieser Beobachter, dem die Botanik so viele schöne Entdeckungen verdankt, beobachtet hat und wie treffend er die Bedeutung seines Gleises eingeschätzt hat, wenn er sagt (I, 127). „Dieses, wie es scheint, allgemeine Vorkommen jenes kristallinischen Stoffes in jedem jugendlichen Zellgewebe deutet darauf hin, daß seine Lösung die Form sei, in welcher die stickstoffhaltige, aus Reservestoffen gebildete Pflanzennahrung von Zelle zu Zelle sich fortbewegt.“ Oder an anderer Stelle (I, 129) „Der Gleiskristall ist gewissermaßen der Zucker des Klebarmheils.“

#### Leucin, $C_6H_{13}CH(NH_2)COOH$ .

Sublimation. BORODIN (III) hat, um Leucin nachzuweisen, sich der Mikrosublimation bedient. Auf einem Objektträger wird ein Tropfen wässriger Leucidlösung verdampft, der Niederschlag mit einem Deckgläschen bedeckt und vorsichtig bis auf 170° C erwärmt. Hierauf findet man das Deckglas mit einem weißen Hauche, bestehend aus winzigen, farblosen, doppelbrechenden, undeutlich begrenzten Kristallschüttchen bedeckt. Als BORODIN abgeschnittene Sprosse von *Paspalum elegans* und *Dahlia variabilis* für mehrere Tage dunkel stellte und dann davon getrocknete Schnitte der Sublimation unterwarf, konnte er in dem entstandenen Hauche Leucinkristalle in Menge feststellen. Der geschilderte Versuch geht mit reinem Leucin, auch wenn man sehr wenig zur Probe benutzt, ausgezeichnet; allein mit Schnitten oder ausgepresstem Saft gelang mir der Versuch nicht befriedigend. Ich habe *Dahlia* und andere Pflanzen, in denen Leucin zu erwarten war, auf Leucin durch Mikrosublimation in der von BORODIN und in der auf der p. 24 angegebenen Weise geprüft, habe auch einen weißen Hauch bekommen, der aber aus farblosen Tröpfchen oder aus undeutlichen Kriställchen bestand, daß man nicht mit Sicherheit die Diagnose auf Leucin stellen konnte. Ich bin daher der Meinung, daß man die Quantitäten von Leucin, die in Pflanzen gewöhnlich enthalten sind, durch Mikrosublimation derzeit mit Sicherheit nicht nachweisen kann.

## Vorkommen.

Das Leucin kommt häufig in Begleitung anderer Aminosäuren, z. B. des Asparagins vor. So findet es sich neben diesem in Keimlingen vieler Papilionaceen: *Soja hispida*, *Vicia sativa*, *Lupinus*-Arten, *Phaseolus* sp. und *Pisum sativum*. Keimlinge von *Cucurbita Pepo*, *Chenopodium album*, Zuckerrohr, Knospen von *Aesculus hippocastanum*, Kartoffelnollen und verschiedene Pilze enthalten gleichfalls mehr oder minder große Mengen von Leucin.

Allantoin,  $C_4H_6N_4O_3$ 

ist das Diureid der Glyoxylsäure und steht in naher Beziehung zur Harnsäure. Es bildet farblose, monokline Prismen und oft sternförmige Drusen. Löslich in Wasser, unlöslich in kaltem Alkohol und Äther.

Allantoin wurde bisher nachgewiesen in Sprossen von *Acer* und *Platanus*, in der Rinde von *Aesculus hippocastanum*, in Rinde und Blatt von *Cordia excelsa*, in Weizenkeimen, im Rhizom von *Symphytum officinale*, *Anchusa officinalis* und in Keimlingen von *Borrage officinalis*.

## Nachweis.

Wird ein Kriställchen in ein Gemisch von ungesättigtem Furfural und konzentrierter Salzsäure gebracht, so färbt sich die Lösung wie bei der Harnsäurereaktion gelblich bis schließlich schwarzviolett. HARVEY-GIBSON (I) versuchte Allantoin im Gewebe des Wurzelstockes von *Symphytum officinale* mit Quecksilbernitrat mikrochemisch nachzuweisen und glaubte aus dem entstandenen Niederschlag auf die Gegenwart des Allantoins schließen zu dürfen. Ein solcher Niederschlag ist aber leider nicht eindeutig, da auch andere Stickstoffverbindungen ähnliche Niederschläge geben.

Bessere Resultate ergab das Verfahren VOGLS (I). Dickere Schnitte (1—2 mm) werden unter Deckglas mit Alkohol versehen und dieses wird dann mit Paraffin umschlossen. Etwa nach 48 Stunden finden sich am Rande der Schnitte die typischen Kriställchen und Drusen von Allantoin. Diese erscheinen rascher und besser lokalisiert, wenn man dem Alkohol 20% konzentrierte Essigsäure zufügt. Vermißt hat VOGL das Allantoin in den unterirdischen Organen von *Symphytum tuberosum*, *Symphytum cordatum*, *Cerinthe minor*, *Lithospermum purpureo-coeruleum*, *Echium vulgare*, *Pulmonaria officinalis*, *Myosotis palustris* und *Oenothera Visianii*.

## Tryptophan

## (Indolaminopropionsäure)

Die VOISENETSche Reaktion, die von FÜRTH auch für quantitative Tryptophanbestimmungen ausgearbeitet wurde, besteht in einer violetten Färbung tryptophanhaltiger Lösungen auf Zusatz von konz. Salzsäure im Überschuß und Spuren von Formaldehyd und Natrium- oder Kaliumnitrit. Die Reaktion deutet die Indolgruppe im Eiweiß an und ist für diese spezifisch. Am besten hat sich eine Dichte von 1.19 für die Salzsäure erwiesen, während eine Dichte von 1.17 die Reaktion bereits schwächt. Schwermetallionen von Eisen oder Kupfer stören, auch ist es gut, das Reagens nach längstens 2stündigem Gebrauch zu erneuern.

Die Schwierigkeiten, die sich der mikrochemischen Anwendung dieser Reaktion anfangs entgegen stellten, hat KRETZ (I) überwunden;

insbesondere war es das unter dem Einfluß der konz. Salzsäure eintretende Zerfließen der Gewebe in einen strukturlosen Brei, das die Beurteilung der Reaktion und ihrer Lokalisation erschwerte. Dem Zerfließen der Gewebe konnte leicht dadurch vorgebeugt werden, daß KRETZ die Präparate durch ein Kieselsäureskelett widerstandsfähig machte.

Zu diesem Zwecke bringt man die Schnitte in eine wässrige Lösung von Natriumsilikat und überträgt sie dann in konz. Salzsäure. Die dadurch in Freiheit gesetzte Kieselsäure fällt als Gel aus, hält den Schnitt ein und verhindert dadurch das Zerfließen des Gewebes. Mit Hilfe dieser geschilderten Reaktion konnte die außerordentlich weite Verbreitung des Tryptophans bei Krypto- und Phanerogamen nachgewiesen werden. Zumal in embryonalen Geweben, bei Dauergeweben hauptsächlich in eiweißleitenden Elementen der Gefäßbündel und Speichergeweben, während es im Grund- und Hautgewebe im allgemeinen vermißt wurde.

Tryptophan war in allen eiweißartigen Zellbestandteilen nachweisbar, im Kern, Kornkörperchen, Aleuron, Eiweißkristallen und in der Grundlage der Chlorophyllkörner.

### III. Fette.

#### Nachweis.

Die Fette der Pflanzen bestehen aus den Glycerinestern der Säuren  $C_nH_{2n}O_2$  und  $C_nH_{2n-2}O_2$  und sind Neutralfette, denn von freien flüchtigen und nicht flüchtigen Fettsäuren finden sich nur Spuren vor. Bei den natürlichen Fetten sind in dem dreiwertigen Alkohol Glycerin alle drei Hydroxyle durch Fettsäureradikale ersetzt. Die Fette sind durchwegs leichter als Wasser, fest oder flüssig, unlöslich im kalten oder heißen Wasser, wenig löslich in Alkohol (mit Ausnahme des Rizinusöls), dagegen leicht löslich in Äther, Petroläther, Schwefelkohlenstoff, Benzol und Aceton. Durch ihre Unlöslichkeit in absolutem Alkohol und Eisessig unterscheiden sie sich in der Regel von den ätherischen Ölen (vgl. p. 166), da diese sich darin lösen. Die flüssigen Fette, auch fette Öle genannt, erzeugen auf Papier einen dauernden durchsichtigen Fleck, einen sogenannten Fettfleck und geben bei starker Erhitzung Akrolein, das an seinem charakteristischen Geruch erkannt werden kann.

Die verschiedenen Fettsäuren, die die Fette zusammensetzen, können derzeit nicht mikrochemisch nachgewiesen und unterschieden werden, daher sind wir gezwungen, allgemeine Eigenschaften der Fette heranzuziehen, um die Fettnatur eines Körpers in der Zelle festzustellen.

1. Alkanninlösung (s. p. 21). Werden fetthaltige Schnitte auf 1 bis 24 Stunden in diese Lösung eingelegt, so färben sich alle Fetttropfen intensiv rot, weil das Öl den Farbstoff speichert. Beim Erwärmen erfolgt die Färbung rascher. Leider speichern auch ätherische Öle und Harze den Farbstoff, die Reaktion ist daher selbstverständlich nicht eindeutig.

2. Osmiumsäure = Überosmiumsäure —  $OsO_4$ . Eine 0,1 bis 1proz. wässrige Lösung wird durch die meisten Fette zu metallischem Osmium reduziert und färbt infolgedessen diese braun bis schwarz. Wasserstoffsuperoxyd hebt die Braunfärbung rasch wieder auf. Leider ist auch diese Reaktion nicht eindeutig, da sie auch von vielen Gerbstoffen, ätherischen Ölen und wahrscheinlich auch noch von anderen

Körpern veranlaßt wird. Gerbstoffe kann man nach ZIMMERMANN (I, 70) vorher durch Auskochen im Wasser extrahieren und ätherische Öle durch Erhitzen auf 130° entfernen. Außerdem geben nicht einmal alle Fette die Probe, ferner nicht Palmitin-, Stearinsäure, ihre Triglyzeride und einige andere Fettsäuren.

3. Sudan III wurde zuerst in der medizinischen und zoologischen Mikrotechnik und später von BUSCALIONI (I) für botanisch-mikrochemische Zwecke empfohlen. Nach diesem Forscher färben sich Wachs, Cutin, Suberin, Fette und Harze intensiv rot. KROEMER (I) rühmt die Verwendbarkeit dieses Farbstoffes für den Nachweis des Korkstoffes. Er verwendet eine Lösung von 0,01 g Sudan III in 5 g Alkohol von 96% und 5 cem Glycerin.

Nach meinen Erfahrungen ist Sudan III eines der besten Färbemittel für Fette und leistet, obwohl es auch durch Harze gespeichert wird, ausgezeichnete Dienste. Die Schnitte werden in die erwähnte Lösung gebracht, je nach Bedarf einige Zeit darin belassen und behufs Aufbewahrung in Glycerin eingelegt.

Cyanin (Chinolinblau), das gleichfalls als Färbemittel für Fette empfohlen wird, kann sich mit Sudan III nicht messen, weil es aus der Lösung leicht ausfällt, die Präparate trübt und für Dauerpräparate nicht gut haltbar ist.

Von anderen Farbstoffen, die noch zur Fettfärbung herangezogen werden können, seien erwähnt: Chlorophyll, Scharlach-R., Buttergelb, Fettblau, Meyersgelb, Brasilin und Alizarin.

4. Verseifung. Eines der wichtigsten Kennzeichen der Fette, das sie von den meisten ätherischen Ölen unterscheidet, ist ihre Verseifbarkeit mit Alkalien. Diese Eigenschaft läßt sich, wie MOLISCH (II, 10) gezeigt hat, auch mikroskopisch verwerten. Er verwendet zur Verseifung ein Gemisch von gleichen Volumteilen wässriger konzentrierter Kalilauge und ebensolcher Ammoniaklösung. Der zu untersuchende Schnitt wird auf dem Objektträger in einen Tropfen dieser Flüssigkeit hineingelegt, mit einem Deckglas bedeckt und dann längere Zeit, ein bis mehrere Tage, im feuchten Räume sich selbst überlassen. Daß die Schnitte lange Zeit der Einwirkung der Lauge ausgesetzt bleiben müssen, betont mit Recht auch TUNMANN (II, 13, d Sep.).

Die Öltropfen verwandeln sich oft in kristallinische, aus Kristallnadeln bestehende Massen (Seifen). Nicht selten sieht es so aus, als ob der Tropfen keine Veränderung erlitten hätte, allein bei Prüfung im Polarisationsmikroskop ergibt sich, daß er sich inzwischen in einen Sphärokristall umgewandelt hat. Schnitte durch die Kotyledonen von *Cucurbita Pepo*, *Helianthus annuus* oder durch das Endosperm von *Coffea arabica* geben ausgezeichnete Resultate. Die großen Fetttropfen, die aus dem Rande der Schnitte hervorquellen, beginnen sich im Reagentropfen von der Peripherie aus allmählich zu trüben und nach und nach in eine kristallinische Masse zu verwandeln (Fig. 44). Die Ölmassen in den Endospermzellen der Kaffeebohne erscheinen nach etwa 3—5 Tagen fast ganz in Kristallnadeln der entsprechenden Seife verwandelt (Fig. 44). Die Umwandlung der Fettsäuren in kristallinische Seifen gelingt auf diese Weise im Mikroskop fast bei jedem Fett und wenn sie eintritt, so spricht dies sehr für Fett. Indes wird man sich nie mit einem Kennzeichen begnügen, sondern möglichst viele heran-

ziehen, um zu einem relativ sicheren Resultat zu gelangen. Dieselbe Methode haben später HARTWICH und UHLMANN (I) für viele Fette, jedoch nicht in der Pflanze, ausprobiert und dabei die Angaben von MOLISCH (II, 10) bestätigt. Sie verwendeten eine gesättigte Kalilauge, vermisch mit dem gleichen Volumen einer 20proz. Ammoniaklösung. Die Lauge wird für manche Versuche zweckmäßig verdünnt: mit dem gleichen, mit 2 und mit 3 Volumen Wasser. Je nach dem Grade der Verdünnung entstehen bald Nadeln, bald Sphärite.

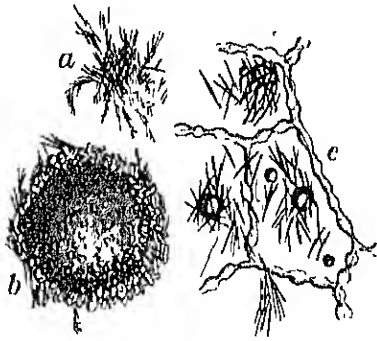


Fig. 44.

Vorseifung von Fetttropfen mit Kalilauge-Ammoniak.

*a* und *b* von Cucurbita Pepo. *a* kleiner Fetttropfen in einem Kristallbroi verwandelt. Vergr. 180.

*b* großer Tropfen an der Peripherie in Kristalle umgewandelt. Vergr. 80.

*c* Fetttropfen im Endosperm von Coffea arabica in Kristalle übergehend. Vergr. 180.



Fig. 45.

Fettkristallnadeln in den Endospermzellen von Elaeis guineensis L. Dazwischen Aleuronkörner mit Eiweißkristallen *a* Vergr. 180

#### Vorkommen.

Die Fette sind im Pflanzenreiche außerordentlich verbreitet, in Spuren wohl in den meisten Zellen vorhanden; entweder flüssig oder fest, manchmal sogar auskristallisiert (Fig. 45). In großen Mengen werden sie als Reservestoffe in den Samen (bei Cucurbitaceen, Linen, Cruciferen, Urticaceen, Papaveraceen, Amygdalaceen, Juglandaceen usw.), seltener im Fruchtfleisch (Olea europaea) oder in Rhizomen (Aspidium filix mas) und häufig zur Winterszeit in Baumrinden gespeichert. In mehr oder minder großen Tropfen (Elaeosomen) finden sich Fette in den Perleldrüsen verschiedener Pflanzen und ferner nach SERNANDER (I) in den drüsenartigen Anhängseln vieler myrmekochorer Samen. Hier bilden sie die Lockspeise der körnersammelnden Ameisen.

Auf der Frucht von Malus coriarius wird flüssiges Fett in kleinen klaren Tröpfchen so reichlich ausgeschieden, daß der Apfel sich fettig anfühlt (MOLISCH VIII).

Verschiedene Teile mancher Orchideenblüten (Paphiopedilum und Cypripedium) zeigen einen fettigen Glanz, so daß sie wie poliert erscheinen. KNOLL (I) hat gezeigt, daß es sich hier auch um ausgeschiedenes flüssiges Fett handelt.

Von weiteren speziellen Fettvorkommnissen im Plasma, in den Chromatophoren usw. wird später noch die Rede sein.

**Myelinformen.** Bei der Verseifung von Fetten (MOLISCH II, 10) entstehen mitunter eigentümliche absonderliche Formen, die man als Myelinformen bezeichnet. Solche sind seit langer Zeit durch die Untersuchungen von VIRCHOW (I), BENDKE (I), BRÜCKE (I) und anderen bekannt. „Aus der Schnittfläche von Nerven quellen bei Zusatz von Wasser aus dem Nerveninhalt kugelige, eiförmige und unregelmäßig geformte Gebilde hervor, welche nach VIRCHOW als Formen einer besonderen Substanz ‚Myelin‘ (=Nervenmark) mit dem Namen Myelinformen bezeichnet wurden. Der Name ‚Myelin‘ für eine chemische Substanz ist jedoch

längst aufgegeben.“ (Zitiert nach NESTLER [IV, 480]). Wenn man zu reiner Ölsäure Ammoniak zufließen läßt, erhält man nach NEUBAUER gleichfalls schöne Myelingestalten. „Es zeigen sich da die wunderbarsten Formen, deren allmähliche Entwicklung unter dem Mikroskope zu den interessantesten Erscheinungen gehört und lange Zeit den Beobachter fesseln kann. Wendet man statt Ölsäure ein an Ölsäure reiches Neutralfett, Olivenöl, Mandelöl usw. an, so entstehen, in gleicher Weise mit Ammon behandelt, dieselben Formen, allein viel langsamer; auch bleiben sie viel kleiner“ (VIRCHOW I).

Werden Cholesterinkristalle in Seifenwasser oder dem Abdampfückstand vom alkoholischen Extrakt des gekochten Eidotters in reinem Wasser behandelt, so entstehen Myelinformen (BENEKE I). Desgleichen wenn man lufttrockene Lezithine mit Wasser in Berührung bringt (CZAPPEK III, I. Bd., 853). Vgl. auch CZAPPEK (IV) und REINERTZ (I).

Myelinformen von seltener Schönheit erhielt NESTLER (IV, 478), als er das Sekret von dem Drüsengewebe der Fruchtscheidewände von Capsicum, das den Sitz des brennend scharfen Capsaicins darstellt, unterm Deckglas mit (10 proz.) Ammoniak behandelte. „In der homogenen, farblosen, ölrartigen Masse entstehen durch die Einwirkung des Ammoniaks sofort zahlreiche, mikroskopisch kleine Kügelchen; gleichzeitig

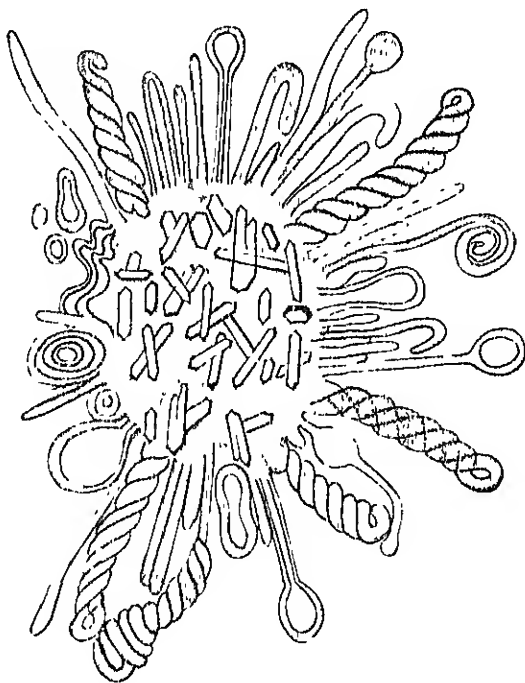


Fig. 46

Myelinformen und Kristalle (von Capsaicin?), entstanden aus einem Sekrettröpfchen einer Drüse der Fruchtscheidewand von *Capsicum annuum* L. nach Zusatz von Ammoniak. Vergr. etwa 100.  
Nach Nestler (VI).



sieht man am Rande des Öltropfens allmählich die sonderbarsten Gebilde hervortreten, vor allem dichtgedrängt homogene Fäden, die sehr lang werden können; andere, dickere Fäden zeigen genau in der Mitte einen Kanal; wieder andere sind am Ende spiralig eingerollt oder enden mit einer kompakten oder hohlen Kugel" (Fig. 46). Ähnliches konnte NESTLER beobachten, als er das Fett der Papua-Macis (*Myristica argentea* Warb.) mit Ammoniak versetzte, hingegen entstanden keine Myelinbildungen, als er das Fett von *Cocos nucifera* und *Elaeis guianensis* in gleicher Weise behandelte. Nach NESTLER besteht das Paprikasekret vorherrschend aus einem vielleicht an Ölsäure reichen Fett, das bei Zusatz von Ammoniak die Myelinformen veranlaßt.

Schöne Myelinformen erhält man auch, wenn man die Fettdrüsenhaare gewisser Labiaten z. B. der *Salvia glutinosa* mit einem Alkali behandelt.

Eine treffliche Zusammenstellung über unsere derzeitigen Kenntnisse der Myelinformen nebst eigenen Untersuchungen findet man bei SENFT (II). Er erzeugte ähnliche Myelinformen, wie sie NESTLER mit dem Drüsensekret der Paprikafrucht erhielt, mit den Fetttropfen aus dem Samenfleisch von *Ginkgo biloba*. Aus SENFTS Untersuchungen geht folgendes hervor:

Das Vermögen, Myelinformen zu bilden, kommt unter gewissen Umständen den Lecithinen, Cholesterinen und gewissen Fettsäuren zu. Neben der Ölsäure vermag auch die Leinöl-, Eruka-, Kaprin- und Kaprylsäure Myelingestalten zu erzeugen. Bei den Lecithinen genügt schon ein Zusatz von Wasser zur Bildung von Myelinformen, bei den Phytosterinen (Cholesterinon) aber ist hierfür Ölsäure oder eine andere Fettsäure und Alkali notwendig. Die Lecithine stellen sehr komplexe Körper dar, die neben Glycerinphosphorsäure Cholin und Fettsäuren enthalten. Da aber weder Cholin noch die Phosphorsäure mit Wasser oder Alkalien allein Myelingestalten ergibt und da auch die Phytosterine nur bei Gegenwart von Fettsäuren und Alkali die Fähigkeit hierzu besitzen, so folgt, daß die Entstehung von Myelinformen an die Gegenwart von Fettsäuren geknüpft ist.

Die Myelinformbildung ist als ein Verseifungsprozeß anzusehen, die Formen zeigen Doppelbrechung und werden von ADAMI und ASCHOFF als flüssige Kristalle aufgefaßt. — —

Es ist begreiflich, daß innerhalb der Zelle oder im Gewebe schon wegen Raum mangels die Myelinbildung häufig nicht zustande kommt. In solchen Fällen kann man, wie TUNMANN (II, 14 d. Sep.) gefunden hat, dennoch zum Ziele kommen, wenn man die Fette zuerst sublimiert. Samenschmitte von *Elaeis*, *Cocos*, *Areca*, *Illicium*, ferner *Secale cornutum* geben Sublimata von Tropfen, in denen sich Fettsäurekristalle ausscheiden. Mit diesem gewissermaßen gereinigten Fett, insbesondere mit den Tropfen konnte TUNMANN die Myelinbildung stets leicht hervorrufen.

Jüngst beobachtete MOLLICH (VII) einen Fall, wo sich Myeline in der Pflanze von selbst bilden. Die Blütenknospen von *Aconitum variegatum* stellen einen sogenannten Wasserkelch dar, wie er bisher nur für mehrere tropische Pflanzen bekannt war. Drückt man sanft auf die noch geschlossene Knospe, so tritt ein Flüssigkeitstropfen hervor und in diesem findet man bei der erwähnten *Aconitum*-Art fertiggebildete, verschieden gestaltete und oft herrlich geschichtete Myelinformen.

#### IV. Wachs.

Auf vielen Pflanzenorganen, namentlich Blättern, Stengeln und Früchten findet man nicht selten einen weißen oder weißlichgrauen Überzug, der sich leicht wegwischen läßt und die betreffenden Organe unbenetzbar macht. An den Pflaumenfrüchten, Weinbeeren und Kohlblättern ist dieser „Reif“ deutlich ausgebildet und wird einer Geflogenheit entsprechend als Wachs oder Wachsüberzug bezeichnet, obwohl er in vielen Fällen nicht mit Wachs in chemischem Sinne, sondern mit echten Fetten übereinstimmt.

Über die morphologischen Verhältnisse der Wachsüberzüge hat uns DE BARY (I und II) genau orientiert. Er unterscheidet vier Hauptformen: 1. Gehäufte Überzüge, 2. einfache Körnchenüberzüge, 3. Stäbchenüberzüge und 4. Krusten.

Körnchenüberzüge in einfacher Lage finden sich bei den erwachsenen Blättern von *Tulipa*, *Echeveria pumila*, Rot- und Weißkohl usw. Körnchen in Haufen treten auf bei *Ricinus communis*, der Blattunterseite von *Abies pectinata*, Stäbchen in Haufen bei den Blättern von *Eucalyptus globulus*, *Secale cereale*, *Elymus arenarius* usw.

Stäbchen: bei den Blättern von *Musa* sp., *Heliconia farinosa*, *Strelitzia ovata*, Stengel von *Saccharum officinarum* usw. Als ein ausgezeichnetes Objekt für Stäbchenüberzüge empfehle ich den Halm vom Schilfrohr *Phragmites communis*. Knapp unterhalb der Knoten erscheint die Epidermis auf eine kurze Strecke nach abwärts von einem Stäbchenüberzug meist bereift (Fig. 47).

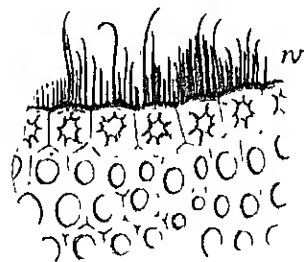


Fig. 47  
Wachsstäbchenüberzug  
von *Phragmites communis*, Stück  
eines Querschnittes des Halms.  
Die Epidermis bedeckt mit  
Wachsstäbchen  $\times$  Vergr. 350

Krusten sind von verschiedener Dicke. Etwa  $1\ \mu$  dick am Laube von *Thuja orientalis* und *Thuja occidentalis*, *Sempervivum*-Arten und auf dem Stengel fleischiger Euphorbien, 15 bis  $19\ \mu$  dick auf den Blättern von *Corypha* (*Copernicia*) *ceiseira*, bis  $79\ \mu$  dick bei *Euphorbia canariensis*, bis 5 mm dick am Stamme von *Ceroxylon* und *Klopstockia* usw.

Alle diese Wachsmassen treten in der Membran auf und werden aus dieser auf der Kutikula ausgeschieden. Beim Erwärmen der Präparate unterm Deckglas bis zum Sieden tritt das Wachs in Form von Tröpfchen aus der Membran heraus.

WIESNER (I und II) zeigte, daß die geformten Wachsüberzüge im polarisierten Lichte aufleuchten, kristallinische oder kristallisierte Effloreszenzen oder Krusten darstellen, bei der trockenen Destillation die Akroleinreaktion geben und aus Glyceriden, freien Fettsäuren, wachsartigen und vielleicht noch anderen Körpern bestehen. Glyceride scheinen den Hauptbestandteil der Wachsüberzüge zu bilden. Über die genauere chemische Zusammensetzung der Pflanzenwachse vergleiche man die Literaturzusammenstellung bei CZAPEK (III, I. Bd., p. 11 ff.).

Um die Kristallisierbarkeit des „Reifes“ z. B. von Kohl- oder *Allium*blättern zu erweisen, verfährt man nach WIESNER (I, 231) in

folgender Weise. Die abgezogene Epidermis mit dem Wachstüberzug wird mit einem Deckglas bedeckt und Äther von der Seite beigefügt. Die Körnchen werden gelöst und erscheinen nach dem Verdampfen des Äthers sofort teils als Nadeln, teils als Aggregate tafelförmiger oder nadelartiger Kristalle. Sehr schöne Kristalle bekam ich auf diese Weise bei *Echeveria glauca* (Fig. 48). TUNMANN (III) konnte die verschiedensten Wachstüberzüge auch sublimieren. Er erhielt Stäbchen, Rosetten, Sphärökristalle usw. Die Wachskörper sind im Wasser unlöslich, schmelzen, da ihr Schmelzpunkt häufig unter  $100^{\circ}$  liegt, in heißem Wasser zu Tropfen zusammen, lösen sich in kaltem Alkohol nicht oder sehr schwer, in heißem aber meist leicht, in Äther sind sie gleichfalls meistens leicht löslich.

Wachs im Zellinnern. Das Vorkommen von Wachs auf der Epidermis ist das gewöhnliche, es gibt aber auch Fälle, wo das Wachs im Innern der Zelle auftritt, z. B. bei den Früchten mehrerer *Rhus*-arten, den Früchten von *Myristica Ocuba*, im Milchsafte von *Picus ceriflua* und im Stengelparenchym mehrerer *Balanophoren* (Miksch).



Fig. 48.

Fettkristalle aus Ätherischer Lösung vom „Wachstüberzug“ der *Echeveria glauca*. Vergr. 180.

Nach den Untersuchungen von A. MEYER (I) sind die Zellen in den Früchten von *Rhus*-arten in der Mittelschichte der äußeren Fruchtschale mit klarem oder nur äußerst schwachkörnigem Wachs erfüllt. Bei *Rhus vernicifera* wird das Wachs nach MOEBIUS (I) als dicker Überzug der Membran nach dem Zellumen ausgeschioden. Die Zellen bekommen hierdurch das Aussehen von Stenzellen.

Im Stengelparenchym von *Balanophora*-arten kommt ein Wachs in so großen Mengen vor, daß man die Pflanze direkt als Kerze verwenden kann. Vor kurzem hat SIMON (I) die Zusammensetzung dieses als *Balanophorin*

bezeichneten Körpers zu studieren begonnen und darin vorläufig *Palmitinsäure* nachgewiesen.

Löst man aus einem Schnitt von *Balanophora* das Wachs unterm Deckglas mit Äther heraus, so kristallisiert es am Deckglasrande in Form von Nadeln, die sich zu Garben oder Sternen zusammenfügen, oder in Form von sphäritischen oder blumenkohlartigen Massen alsbald beim Verdampfen des Äthers.

## V. Trichomsekrete.

Die von den Haaren verschiedener Farnblätter abgesonderten, mehrlartigen Sekrete sind vorläufig noch nicht so genau bekannt, daß wir sie einer bestimmten Stoffgruppe zuweisen können. Die von mancher Seite geäußerte Vermutung, daß wir es hier wie bei den Wachstüberzügen auch mit echten Fetten zu tun haben, hat sich als unrichtig erwiesen. — Auch das von den Blättern verschiedener *Primeln* durch Drüsenhaare abgeschiedene giftige Sekret ist, obwohl es rein und kristallisiert dargestellt worden ist, seiner chemischen Natur nach unbekannt. Dasselbe gilt auch vom hautreizenden Sekret verschiedener *Cypripedien*.

Da aber alle diese Sekrete Produkte von Haaren, also der Epidermis sind, so mögen sie provisorisch ihren Anschluß an die Fette finden und hier behandelt werden, ohne daß damit über ihren chemischen Charakter etwas ausgesagt sein soll.

#### a) Primelgift.

Nach den eingehenden Untersuchungen NESTLERS (I) scheiden viole Primeln durch die die oberirdischen Organe bedeckenden Drüsenhaare ein Sekret ab, das auf der Haut des Menschen eine mehr oder minder heftige Entzündung (Dermatitis) hervorrufen kann. Es gehören hierzu: *Primula obconica* Ilance, *P. sinensis* Lindl., *P. Sieboldii* Morren, *P. cortusoides* L., *P. mollis* Hook. und *P. Arendsii* Pax.

Die das giftige Sekret abscheidenden mehrzelligen Köpfchenhaare (Fig. 49) finden sich bei *Primula obconica* besonders an der Unterseite der Laubblätter und an den Blütenstielen vor. Diese Drüsenhaare bestehen aus einem mehrzelligen Stiel und einer als Köpfchen ausgebildeten Endzelle. Zwischen der Kutikula und der Zellmembran des Köpfchens bildet sich ein gelblichgrünes oder braunes Sekret, das sich nach dem Platzen der Kutikula nach unten über die Stielzellen ergießt. Man kann das Sekret leicht auf den Objektträger übertragen, wenn man ihn auf einen Blatt- oder Blütenstiel sanft andrückt und ihn und her

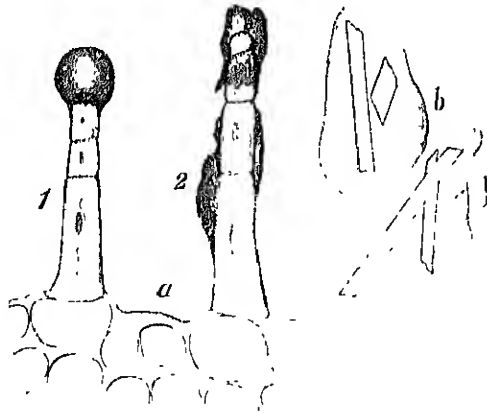


Fig. 49

*Primula obconica*.

- a* Stück eines Querschnittes des Blattstiels mit 2 Drüsenhaaren; 1 junges Haar an der Spitze mit dem giftigen Sekret, 2 älteres Haar mit herabfließendem Sekret.  
*b* Sekretmassen, in denen das Primelgift auskristallisiert. Vergr. bei *a* und *b* 180.

fährt. Unterm Mikroskop lassen sich dann leicht Tropfen oder größere Massen des Drüsensekretes beobachten. Wie NESTLER (I, 8) zeigte, treten darin alsbald kleinere oder größere mehr oder weniger gelb erscheinende monokline Kristalle in Form von Nadeln, Prismen oder verschiedenen Kombinationen auf (Fig. 49). Nach 3 Tagen beginnen sich die freiliegenden, vom Sekrete unbedeckten Kristalle zu verflüchtigen und nach 4 Tagen verschwinden sie völlig. Wird ein Laubblatt von *Primula obconica* mit seinem Stiele über ein Uhrglas gehalten und mit Äther so übergossen, daß die Flüssigkeit nur flüchtig die Oberfläche des Blattes berührt, so löst sich das Sekret und nach dem Verdunsten des Äthers sieht man in dem Uhrglase zahlreiche gelbe Kristalle, die sich leicht sublimieren und so in größeren Mengen gewinnen lassen. Diese Kristalle, die nach NESTLER das eigentliche Hautgift darstellen und die mit den Kristallen des Sekretes identisch sind, lösen sich in abs. Alkohol, Äther, Chloroform, Terpentinöl, Benzol, Eis-

essig, verschwinden in Schwefelsäure, Salzsäure und Kalilauge. Eine von NESTLER (II, 473) beobachtete Reaktion erscheint besonders auffallend. Wenn man von dem mit Äther erhaltenen Rückstand des Sekretes etwas auf einen Objektträger überträgt, mit dem Deckglas bedeckt und konz. Schwefelsäure hinzutreten läßt, „so werden die homogene Grundsubstanz und die gelben Kristalle sofort gelöst, und zwar mit grünlichgelber Farbe, die gewöhnlich nach ungefähr 5 Minuten (wie bei *P. mollis*) in smaragdgrün bis dunkelgrün übergeht; nach 10 Minuten, mitunter erst nach  $\frac{1}{2}$  bis 1 Stunde, sieht man an manchen Stellen zahlreiche feine Nadeln von blauer Farbe“, die sich allmählich entfärben und dann verschwinden.

Ob diese Reaktion für das Primelgift charakteristisch ist und für alle hantreizenden Primeln gilt, bleibt noch zu untersuchen, um so mehr, als bei *Pr. obconca* die Reaktion nicht immer gelang. Nicht alle Primeln wirken hantreizend. *Primula officinalis* L., *Pr. Auricula* L., *Pr. farinosa* und andere wirken nicht giftig. Unter diesen nicht hantreizend wirkenden gibt es aber einige, die mit ihren Laubblättern und Blütenstengeln ein Sekret in Form eines weißen mehrlartigen Überzuges erzeugen: *Primula petiolaris* var. *pulverulenta* Hook. und *Pr. verticillata* Forsk. Auch hier sind es Drüsenhaare, die das Sekret ab scheiden. Ihre Köpfchenzelle ist mit zahlreichen kleinen Stäbchen und Körnchen bedeckt, die in Äther und Alkohol sehr leicht löslich sind und nach dem Verdunsten des Lösungsmittels wieder in Form von Nadeln oder dendritischen Nadelaggregaten herausfallen.

BRUNSWIK ist es im Anschluß an die Entdeckung von H. MÜLLER (I), daß der Hauptbestandteil des Primelmehlstaubes ein Flavon von der Zusammensetzung  $C_{15}H_{10}O$  ist, gelungen, auch den mikrochemischen Nachweis nach KLEIN (I) dafür zu liefern.

- a) Dieses Flavon ist leicht löslich in Äther, ganz im Gegensatz zu seinen Abkömmlingen, deren Unlöslichkeit in Äther G. KLEIN in der allgemeinen Charakteristik der Flavone hervorhebt.
- b) Das Flavon läßt sich leicht in heißer konz. Salzsäure in charakteristischen Kristallen wieder umkristallisieren. Wenn man etwas Mehlstaub unter Deckglas mit konz. Salzsäure versetzt, so kristallisiert er in feinen Nadeln und Nadelbüscheln von echtem Flavonaussehen nm. Dieses Umkristallisieren gelingt besonders leicht in heißer Salzsäure.
- c) Primelstaub liefert bei der Mikrosublimation brauchbare Flavon-Sublimate in Form von ranken- und federartigen Kristallen
- d) Aus der alkoholischen Lösung fällt Jodjodkalium blaue Nadelbüschel oder nadelförmige Jodflavonmischkristalle, die in 50%iger Salzsäure unlöslich bleiben. Auch fertige Flavonkristalle adsorbieren Jod stark bis zur Schwarzfärbung und halten es zähe fest. Alle diese Reaktionen lassen sich leicht mit den aus dem Primelstaub gewonnenen Sublimaten ausführen.
- e) Endlich sei erwähnt, daß das Flavon in konz. Salzsäure blau fluoresziert und daß der Primelstaub die gleiche Probe gibt.

BRUNSWIK hat die unter a—e geschilderten Reaktionen zur Ermittlung der Verbreitung der Flavonausscheidung bei der Unterabteilung der Primulinae benutzt und konnte zwei Arten der Ausscheidung des

Flavons hier feststellen. Das Flavon wird in fetter Lösung ausgeschieden, durchsetzt die Kutikula und kristallisiert als Mehlstaub aus oder das Flavon verbleibt in der fettigen Lösung und wird erst durch chemische Mittel kristallinisch gefällt.

Von 74 untersuchten Primelarten konnte das Flavon bei 25 Arten nachgewiesen werden: *Primula malacoides*, *P. farinosa*, *P. auricula* u. a.

Auch bei drei Arten von *Dionysia* konnte die an der Unterseite der Blätter an Kelch und der Blumenkrone vorkommende, aus einem Kristallgewirr bestehende gelbliche Masse als Flavon erkannt werden. Desgleichen in dem stets flüssigbleibenden Exkret der Drüsenhaare von *Primula sinensis* und in dem von *Cortusa Matthioli*, hingegen nicht in der Ausscheidung von *Primula obconica*. Wie BRUNSWIK zeigte, gibt der von NESTLER entdeckte kristallisierbare, hautreizende Körper von *Primula obconica* die Flavonreaktion nicht.

#### b) Das Gift der *Cortusa Matthioli* L.

In jüngster Zeit konnte NESTLER (V, 330) auch an den Haaren des Laubblattes der gleichfalls zu den Primulaceen gehörigen *Cortusa Matthioli* eine giftige, hautreizende Wirkung nachweisen. Als er ein frisches Blatt mit der stark behaarten Unterseite auf die Innenseite des linken Unterarmes nahe der Handwurzel auflegte und hier 2 Stunden angedrückt beließ, entstand zunächst eine Rötung und dann ein großes Ekzem ganz so wie nach dem Auflegen eines Blattes von *Primula obconica*. Den Sitz des Cortusagiftes stellen die Drüsenhaare des Blattes dar, die auf der Köpfchenzelle eine farblose Sekretkappe, mitunter eine unregelmäßige, von kleinen, nadelförmigen oder prismatischen Kristallen durchsetzte Sekretmasse tragen. Diese Massen und die Kristalle zeigen aber ganz andere mikrochemische Reaktionen als die der *Primula obconica*. Sie lösen sich zwar auch in Alkohol und Äther leicht, die Lösung scheidet aber nach dem Verdunsten keine Kristalle ab. In Wasser sind sie unlöslich, in verdünnten Säuren leicht löslich. Eine Sublimation gelang nicht. Bei der derzeit noch mangelhaften Kenntnis des Giftes läßt sich über seine chemische Natur nichts aussagen.

#### c) Das *Cypripedium*sekret

Durch zwei Arbeiten von MAC DOUGAL (I u. II) wurde die Aufmerksamkeit auf die hautreizende Wirkung des Haarsekretes von *Cypripedium spectabile* und *C. pubescens* gelenkt, NESTLER (III) hat die vorhandenen Angaben zum Gegenstand genauer Studien gemacht. Seine an sich selbst durchgeführten Versuche beweisen, daß durch die Drüsenhaare der oberirdischen Organe von *Cypripedium spectabile* Salzb., die menschliche Haut in ähnlicher Weise wie durch das Primelgift gereizt wird. Entsprechende Versuche mit *Cypripedium pubescens* und *C. parviflorum*, die nach MAC DOUGAL ebenfalls die Haut reizen sollen, hatten aber bei NESTLER keinen Erfolg. Er gibt aber trotzdem die Möglichkeit zu, daß bei anderen Personen oder unter anderen Umständen *C. pubescens* hautreizend wirken könnte. Die meisten untersuchten *Cypripedium* tragen auf ihren oberirdischen Organen mehrzellige Drüsenhaare, die aus einem mehrzelligen Stiel und einer köpfchenartigen Endzelle bestehen. Ihr Sekret stellt eine homogene,

gewöhnlich farblose Substanz dar und wird in ähnlicher Weise wie das Primelssekret von der Endzelle abgesondert. Im Gegensatz zum Primelssekret kristallisiert das Cypripediumsekret nicht und repräsentiert eine fettartige Substanz, die Farbstoffe (Anilinblau, Safranin, Methylgrün usw.) stark speichert und mit verdünnter Kalilauge und mit verdünntem Ammoniak Myelinformen bildet, was vielleicht durch eine Fettsäure veranlaßt wird. Da besonders die hautreizenden Cypripedien im Gegensatz zu den nicht hautreizenden die Myelinformen in besonders schöner Weise geben, so vermutet NESTLER, daß vielleicht die hautreizende Substanz an eine Fettsäure gebunden ist. Durch Andrücken des Objektträgers an die Haare wird das Sekret leicht abgestreift. Es ist leicht löslich in Alkohol, Äther, Petroläther, Schwefelkohlenstoff und Benzol. Osmiumsäure schwärzt oder bräunt. Es reagiert neutral.

Das Sekret von *Cypripedium spectabile* färbt sich mit verdünntem Ammoniak sofort gelb, dann karminrot und schließlich violettrot. Weitere Untersuchungen müssen darüber Aufschluß geben, ob diese

Farbenreaktion auch mit dem Sekret anderer Cypripedien gelingt und ob es für das Cypripediensekret überhaupt charakteristisch ist.



Fig. 50.

Drüsenhaare von *Gymnogramme sulphurea*.

- a) Haar mit trichitischen Kristallen.
- b) Dasselbe Haar nach Behandlung mit Äther.
- c) Gelbe Gymnogrammenkristalle aus ätherischer Lösung.

#### d) Drüsensekrete von Gold- und Silberfarne.

Die Blätter der Gattungen *Gymnogramme*, *Notochlaena* und *Cheilanthes* tragen auf ihrer Unterseite Drüsenhaare, die an ihren Köpfchen kristallinische Sekrete absondern (Fig. 50). Die unteren Blattflächen werden, da die Drüsenhaare dicht nebeneinander stehen, hierdurch je nach der Spezies gelb oder weiß gefärbt und von den

Gärtnern deshalb als Gold- und Silberfarne bezeichnet. Über die chemische Natur werden verschiedene Ansichten geäußert. KLOSCHE (I) hielt sie für Pseudostearoptene, DE BARY (II, 105) für harzartige Körper, WIESNER (III, 111) für kristallinische Effloreszenzen, die sicherlich nicht zu den echten Fetten gehören, und BLASDALE (I) findet an dem Sekret von *Gymnogramme triangularis* ein hellgelbes, kristallisierendes Ceropten,  $C_{15}H_{16}O_2$ , und eine farblose Substanz.

Die beste Untersuchung, die auf der Darstellung von reinem Material beruht, verdanken wir ZORF (I). Er isolierte aus dem Destillationsrückstande des ätherischen Auszuges von *Gymnogramme chrysophylla* Kaulf. und *G. sulfurea* Desv. zwei Substanzen: „Die eine stellt einen schön roten (etwa chromroten, in feiner Verteilung mehr gelb aussehenden) gut kristallisierenden, aromatisch riechenden Körper, das Gymnogrammen dar, welches bei  $159^\circ$  schmilzt und nach  $C_{15}H_{16}O_2$  zusammengesetzt ist; die andere repräsentiert ein bei 63 bis  $64^\circ$  schmelzendes, neutral reagierendes Wachs.“ Ob aber dieses wirklich den Drüsen der Farne angehört oder nur den Wachstüberzug der Epidermis darstellt, bleibt nach ZORF fraglich.

Das Sekret von *Gymnogramme calomelanos* ergab einen farblosen, kristallisierenden, bei 141 bis 142° schmelzenden, schwach kampferartig duftenden Stoff von der Formel  $C_{20}H_{22}O_6$ , den ZORF Calomelanen nannte.

Das rote bzw. gelbe *Gymnogrammen* bedingt die gelbe Färbung der Drüsen von *Gymnogramme chrysophylla* und *G. sulfurea*, während das farblose Calomelanen die weiße Farbe der Haardrüsen von *G. calomelanos* verursacht.

Die in Rede stehenden Sekrete gehören nach ZORF in Übereinstimmung mit WIESNER nicht zu den echten Fetten, denn sie erzeugen auf Papier keinen bleibenden Fettfleck und geben mit Ätzalkalien keine schäumenden Seifen. Damit erledigen sich die vorhin erwähnten Behauptungen über die chemische Natur dieser Körper von DE BARY und KLOTSCH von selbst.

## VI. Kohlehydrate.

Ebenso wie die Fette setzen sich auch die Kohlehydrate aus den Elementen C, H und O zusammen, und zwar finden sich die beiden letzteren genau wie beim Wasser im Verhältnis von 2:1 vor. Davon hat diese Stoffgruppe auch ihren Namen erhalten. Dieses Verhältnis kann jedoch auch bei anderen nicht zu Kohlehydraten gehörigen Verbindungen zutage treten, z. B. beim Formaldehyd, der Essigsäure und anderen. Man kann sie auf Grund der Untersuchungen von E. FISCHER als aldehyd- oder ketonartige Derivate mehrwertiger Alkohole bezeichnen. Die Kohlehydrate stellen neutral reagierende, indifferente Verbindungen dar, die nach ihren allgemeinen Eigenschaften und ihrer Zusammensetzung in drei Gruppen zerfallen.

- 1 Monosaccharide (Aldosen und Ketosen),
- 2 Disaccharide oder Biosen,
- 3 Polysaccharide oder Polyosen (Stärke, Zellulose usw.).

Die beiden letzten Gruppen gehen durch Kochen mit verdünnten Säuren in Monosaccharide und daher nach der Hydrolyse auch die Reaktionen der 1. Gruppe. Je nach der Zahl der Kohlenstoffatome nennt man die Monosaccharide Diosen, Triosen, Tetrosen, Pentosen, Hexosen usw., doch kommen in der Natur fast ausschließlich die beiden letztgenannten Gruppen vor.

Die Kohlehydrate spielen in der Biologie der Gewächse eine ungemein wichtige Rolle als Bau-, Reservestoffe und als Zwischenprodukte des Stoffwechsels und daher tauchte begreiflicherweise schon frühzeitig das Bedürfnis nach brauchbaren mikrochemischen Reaktionen auf. Einige Fortschritte sind bereits zu verzeichnen, aber vieles bleibt noch zu tun übrig, denn eine Unterscheidung der in der Pflanze vorkommenden Zuckerarten ist derzeit mikrochemisch meist unmöglich, und wir müssen uns vorläufig bescheiden, Zucker überhaupt nachweisen zu können.

Aus praktischen Gründen soll hier zunächst nur der mikrochemische Nachweis einiger löslicher Kohlehydrate behandelt werden, während die festen wie Zellulose, Stärke und verwandte in einem späteren Abschnitt betrachtet werden sollen.



## a) Zucker.

1. Reaktion von MOLISCH. Der genannte Autor (III) hat zwei Zuckerreaktionen in die Chemie eingeführt, die für den Nachweis von Zucker überhaupt und der Zuckerkomponente in komplexen Verbindungen, z. B. in Kohlehydraten und Glykosiden, von Wichtigkeit geworden sind. Sie werden in folgender Weise ausgeführt:

a) Mit  $\alpha$ -Naphthol. Eine kleine Probe, etwa  $\frac{1}{2}$  bis 1 cm der zu prüfenden Flüssigkeit wird in der Eprouvette mit 2 Tropfen einer 15–20 proz. alkoholischen  $\alpha$ -Naphthollösung versetzt und geschüttelt. Dabei trübt sich, da etwas  $\alpha$ -Naphthol aus der Lösung herausfällt, die Flüssigkeit. Gießt man hierauf konzentrierte Schwefelsäure im Überschuß (ebensoviel oder doppeltsoviel als Flüssigkeit vorhanden ist) dazu und schüttelt rasch, so nimmt die Probe bei Gegenwart von Zucker momentan eine tief violette Färbung an. Nachherige Verdünnung mit Wasser veranlaßt die Ausscheidung eines blavioletten Niederschlages, der sich in Alkohol und Äther mit gelblicher, in Kalilauge mit goldgelber Farbe auflöst und in Ammoniak zu gelblichbraunen Tröpfchen zerfließt.

b) Mit Thymol. Verwendet man in der eben geschilderten Probe bei sonst gleichem Verfahren anstatt  $\alpha$ -Naphthol Thymol, so entsteht eine zinnober-rubin-karminrote Färbung und bei darauffolgender Verdünnung mit Wasser ein karminroter flockiger Niederschlag.

Die beiden Reaktionen gelingen nicht bloß mit Zucker, sondern auch mit anderen Kohlehydraten, Glykosiden, ja sogar mit manchen Eiweißkörpern, wenn in deren Atomkomplex Kohlehydrate anwesend oder vorgebildet sind. Durch die Schwefelsäure wird eben aus den genannten Substanzen Zucker abgespalten und dieser wird durch die Reaktion von MOLISCH angezeigt. Ob diese durch Zucker selbst bedingt wird oder, wie UDRÁNSKY (I) meint, durch das aus dem Zucker durch die Schwefelsäure entstehende Furfurol, soll hier nicht erörtert werden, da dies für den Mikrochemiker nicht von Belang ist.

Unter gewissen Vorsichten kann man die MOLISCH-Reaktion zum Nachweis von Zucker auch mikrochemisch verwerten. — Ein nicht zu dünner Schnitt wird auf dem Objektträger mit einem Tropfen alkoholischer (15 bis 20%)  $\alpha$ -Naphthollösung behandelt, hierauf 2 bis 3 Tropfen konzentrierte Schwefelsäure hinzugefügt, so daß der Schnitt in dem Gemenge völlig untergetaucht ist. Bei Gegenwart von Zucker färbt sich der Schnitt schon nach ganz kurzer Zeit schön violett, zuerst schwach, dann immer intensiver. Zuckerhaltige Schnitte geben die Reaktion fast augenblicklich oder innerhalb der ersten 2 Minuten, die anderen im Schnitt vorhandenen Kohlehydrate erst nach mehreren Minuten, oft erst nach  $\frac{1}{4}$  bis  $\frac{1}{2}$  Stunde.

Man kann sich von den im Wasser unlöslichen Kohlehydraten einigermaßen unabhängig machen, wenn man von dem zu prüfenden Gewebe zwei Schnitte anfertigt und den einen davon vorher in Wasser durch einige Minuten kocht. Hierbei gehen Zucker, etwa vorhandenes Dextrin, Gummi und Glykoside in Lösung. Unterwirft man dann beide Schnitte der Reaktion, so ergibt sich eventuell ein bedeutender Unterschied. Der intakte Schnitt zeigt, falls Zucker vorhanden ist, nach kurzer Zeit und intensiv die Reaktion, der gekochte dagegen, obwohl Zellulose und vielleicht Stärke vorhanden ist, viel später und schwächer.

Die rasche Violettfärbung bei dem intakten Schnitt deutet auf Zucker, möglicherweise auch auf Dextrin, Gummi und Glykoside. Ich betone jedoch ausdrücklich, daß der rasche positive Ausfall der Reaktion nicht ohne weiteres auf Zucker bezogen werden darf, sondern mehr zur Orientierung dient und die Vermutung begründet, daß Zucker vorhanden ist.

2. Die TROMMERSche Probe (I). Alkalische Kupferlösung, z. B. FEHLINGS-Lösung (vergl. p. 20), wird durch Glykose zu gelbrotem Kupferoxydul reduziert. Diese Reaktion wurde vielfach auch mikrochemisch verwertet, zuerst von SACHS (I), dann mehr oder minder modifiziert von A. MEYER (II), A. FISCHER (I), CZAPEK (II), HOFFMEISTER (I) und anderen.

SACHS legt die zu prüfenden, nicht zu dünnen Schnitte in Schälchen mit konzentrierter Lösung von Kupfervitriol. Indes wird ein Schälchen mit starker Kalilauge bis zum Sieden erhitzt. Nun wird der Schnitt aus der Kupfersulfatlösung herausgenommen, im Wasser rasch abgespült und in die heiße Kalilauge hineingelegt. Bei Anwesenheit von reduzierenden Zuckerarten, z. B. von Traubenzucker, entsteht alsbald in den Zellen ein Niederschlag von Kupferoxydulkörnchen, die dem Schnitte eine gelbe bis rötliche Färbung erteilen.

Bequemer ist es, die Schnitte auf dem Objektträger in einen großen Tropfen FEHLINGScher Lösung zu legen, mit dem Deckglas zu bedecken und über der Flamme des Mikrobrenners gelinde zu erwärmen.

Um Glykose in den Holzgefäßen nachzuweisen, legt A. FISCHER (I) die median gespaltenen Aststücke durch 5 Minuten in eine konzentrierte Lösung von Kupfervitriol und nach vorheriger Abspülung mit Wasser in eine siedende Lösung von Seignettesalz mit Ätznatron, wo sie durch 2 bis 5 Minuten kochen müssen. Derartig behandeltes Holzmaterial kann jahrelang trocken oder in Alkohol aufbewahrt werden, läßt sich nach dem Aufweichen gut schneiden und zeigt dann noch immer die Glykosereaktion in den Gefäßen. Nach LINDBAUER (I) handelt es sich aber hier nicht um eine durch Glykose, sondern durch bestimmte Zellulosemodifikationen der verholzten Wände erfolgte Reduktion.

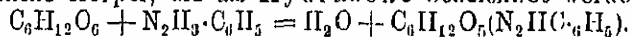
Die TROMMERSche Probe hat zwei Übelstände. 1. wird die alkalische Kupferlösung nicht bloß durch reduzierende Zuckerarten, sondern auch noch durch andere Körper (Glykoside, Amylodextrin, Phloroglucin, Hemicellulosen [LINDBAUER I] usw.) reduziert, und 2. tritt die Reaktion nicht lokalisiert auf, sondern der Zucker dringt während der Reaktion aus den Zellen in die Umgebung und der auftretende Niederschlag sagt dann über die ursprüngliche Verteilung in dem Gewebe nichts Bestimmtes aus —

Diesem letzteren Übelstande sucht A. MEYER (II) durch folgendes Verfahren abzuweichen: „Man stellt 2 bis 4 Zellagen dicke Schnitte der zu untersuchenden Pflanzenteile her, legt sie kurze Zeit in eine gesättigte Lösung von Kupfersulfat, schwenkt sie schnell einmal in Wasser ab und bringt sie sofort in eine siedende Lösung von 10 g Seignettesalz und 10 g Ätznatron in 10 g Wasser. Nach einigen Sekunden ist in allen Zellen, welche reduzierenden Zucker enthalten, ein Niederschlag von Kupferoxydul entstanden, während die anderen Zellen vollkommen farblos bleiben.“

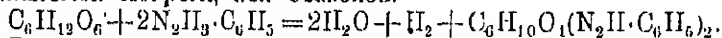
Nachweis von Rohrzucker. CZAPEK (II) und HOFFMEISTER (I) haben eine Methode ausgearbeitet, um Rohrzucker mikrochemisch, eventuell auch neben Glykose, nachzuweisen. Diese Methode beruht im wesentlichen darauf, den vorhandenen Rohrzucker durch Ilofeinvertin in Trauben- und Fruchtzucker umzuwandeln und dann den reduzierenden Zucker durch FEILINGSche Lösung festzustellen. Als Invertin verwendete HOFFMEISTER ein Rohprodukt, das durch Fällen eines Extraktes aus frischer, rasch getrockneter Preßhofs mit Alkohol gewonnen wurde. Die Hefe wurde mit Wasser zu einem Brei verrührt, bei 40°C ungefähr 12 Stunden stehen gelassen, abgepreßt, der Extrakt filtriert und mit Alkohol gefüllt. Werden nun nicht zu dünne Schnitte, die keinen reduzierenden Zucker enthalten, in einen Tropfen konzentrierter Invertinlösung eingelegt, mehrere Stunden unter Erneuerung des Tropfens bei Zimmertemperatur belassen, dann nach A. MEYER mit einem Tropfen konzentrierter Kupfersulfat-Seignettesalz-Natronlauge behandelt, mit einem Deckglas bedeckt und erwärmt, so scheidet sich, wenn Rohrzucker früher zugegen war, alsbald rotes Kupferoxydul ab.

Selbst wenn Rohrzucker neben Traubenzucker vorhanden war, kann das Verfahren noch verwertet werden, wenn man einen Schnitt vor und einen zweiten nach der Inversion prüft. Eine stärkere Reaktionsintensität beim 2. Schnitt deutet auf die Gegenwart von Rohrzucker neben Glykose. Vorausgesetzt wird dabei, daß die Schnitte nicht schon von vornherein so viel Glykose enthalten, daß die Reaktion nach der Inversion kaum noch intensiver ausfallen kann. Auch diese Methode hat Mängel und gewisse Fehlerquellen, bezüglich welcher auf die Originalarbeit HOFFMEISTERS verwiesen wird. Unter Beachtung bestimmter Vorsichten wird sie jedoch in vielen Fällen gewiß gute Dienste leisten.

3. Die Phenylhydrazinprobe. Wie E. FISCHER (I) gezeigt hat, geben Zuckerarten, die wie die Monosaccharide freie Aldehyd- oder Ketongruppen enthalten, mit Phenylhydrazin farblose, in Wasser meist leicht lösliche Körper, die als Hydrzone bezeichnet werden.



Werden die Monosaccharide mit überschüssigem, essigsaurem Phenylhydrazin unter Erwärmen behandelt, so verbinden sie sich mit zwei Molekülen Phenylhydrazin zu gelben, im Wasser schwer löslichen, kristallisierten Körpern, den Osazonen.



Diese Osazone spielen für die Abscheidung und den Nachweis der verschiedenen Zuckerarten eine sehr große Rolle. Während Traubenzucker, Fruchtzucker und Mannose die Osazone direkt geben, muß Rohrzucker zunächst in die beiden ersten gespalten werden, wenn er Osazone liefern soll.

Es war naheliegend, diese Zuckerprobe auch mikrochemisch zu verwerten, zu diesem Zwecke mußte sie aber entsprechend modifiziert werden, und dies ist durch SENFT (I) geschehen. Er verwendet zwei Lösungen: Eine Lösung von salzsaurem Phenylhydrazin in Glyzerin und eine zweite von Natriumazetat, gleichfalls in Glyzerin, beide im Verhältnis 1:10. Es ist zweckmäßig, bei der Bereitung der Lösungen die beiden Substanzen zunächst zu pulverisieren und dann im Wasserbade unter Erwärmen zu lösen. Die Lösungen sind getrennt in Stiffläschen dunkel aufzubewahren.

Soll die Reaktion ausgeführt werden, so bringt man auf den Objekträger je einen Tropfen aus den beiden Fläschchen, vermischt die beiden Tropfen mit einem Glasstäbchen, legt den zu prüfenden Schnitt hinein, bedeckt mit einem Deckglas und legt das Präparat beiseite. Ein genau ebenso angefertigtes zweites Präparat wird am siedenden Wasserbad eine halbe Stunde erwärmt und dann abkühlen gelassen. Bei Gegenwart von Zucker färben sich Schnitt und Flüssigkeit oft schon während des Erwärmens gelb und schon nach dem Abkühlen kann man häufig bei mikroskopischer Betrachtung Garben oder Büschel des Osazons wahrnehmen, die teils im Gewebe selbst, teils in der Flüssigkeit, zumal am Rande des Deckglases sich abscheiden können. Erwärmt man nicht, so dauert es oft Stunden bis mehrere Tage, bis die Osazonkristalle entstehen. Ohne Erwärmen kommt es gewöhnlich zur Bildung von kleinen Büscheln oder Sphäriten, die im polarisierten Licht schön aufluchten (Fig. 51). Beim Nichterwärmen des Präparates entstehen die Kristalle zwar viel später, aber sie entstehen mehr lokal und sagen dann mehr über die Verteilung des Zuckers aus. Beim Erwärmen tritt die Reaktion, weil der Zucker aus den Zellen heransdiffundiert, mehr diffus auf. Da beide Präparate ihre Vorteile haben, ist es zweckmäßig, immer zwei Proben zu machen, die eine bei gewöhnlicher und die andere bei höherer Temperatur.

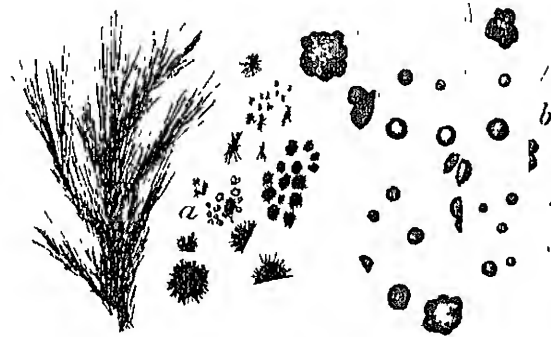


Fig. 51.

Osazonkristallformen, mit essigsäurem Phenylhydrazin aus der Apfelfrucht erhalten. *a* Büschel und Sterne, *b* Sphärite im Parenchym. Das große Büschel links 60mal, alles übrige 180mal vergrößert.

In der Kälte gehen wässrige Dextroselösungen (1:1) oft erst am fünften Tage reichlich Abscheidungen von kleinen Sphäriten, hingegen nach dem Erwärmen schon nach einer halben Stunde.

SENF konnte in sehr zahlreichen Objekten (Birne, Apfel, Feige, Johannishrot usw.) mit Phenylhydrazin Osazone erhalten, unter anderen auch mit den Keulenhaaren der Staubgefäße von Verbascum-Arten, in welcher sich nach VOGEL (I) gleichwie in den Epithelzellen der Staubfäden gelbe Sphärite vorfinden. Diese bestehen aber nicht aus Zucker, sondern aus dem Glykosid Hesperidin (TUNMANN IV).

Die Untersuchungen von SENF setzen uns in den Stand, Zucker mikrochemisch im Gewebe nachzuweisen. In der Kälte werden wohl nur Monosaccharide angezeigt, bei Erwärmen erfolgt aber eine Inversion der Bienen durch das Glycerin und dann können natürlich auch diese indirekt die Proben geben. Je nachdem man die Reaktion mit oder ohne Erwärmen ausführt, kann man bis zu einem gewissen Grade nach SENF nicht nur Zucker nachweisen, sondern auch Monosaccharide und Bienen (Rohrzucker) unterscheiden.

Einen Schritt weiter ging GRAFE (I), indem er zeigte, wie man zwischen Glykose und Fruktose mikrochemisch unterscheiden kann. Er fand, daß das sekundäre asymmetrische Methylphenylhydrazin nicht mit Glykose, wohl aber mit Fruktose ein Methylphenylosazon gibt. Zur Ausführung der Reaktion benutzte er Lösungen von Methylphenylhydrazinchlorhydrat und Natriumacetat in Glycerin von der Konzentration 1:10. Im übrigen verfährt man nach GRAFE bei der Ausführung der mikroskopischen Reaktion ganz analog, wie wir dies bei dem SENFTschen Zuckernachweis kennen gelernt haben, nur dehnt man die Erwärmung des Präparates nicht über 10 Minuten aus. Nach längerer oder kürzerer Zeit scheidet sich, bei den kaltbehandelten Präparaten erst nach 3—4 Tagen, das Fruktosemethylphenylosazon in Form von Garben, Bündeln, Sternen, Sphäriten oder Schollen von hellgelber, gelbroter bis brauner Farbe aus.

GRAFE untersuchte auch Pflanzenobjekte nacheinander auf Glykose, Fruktose, Saccharose und Maltose und ging hierbei in folgender Weise vor. Zunächst wird eine Serie von Präparaten mit Methylphenylhydrazin kalt und warm geprüft, wobei jedoch die Erwärmung nicht über 10 Minuten ausgedehnt wird, weil sonst eine Inversion der Bienen hätte eintreten können. Treten Osazonkristalle auf, so ist auf die Gegenwart von Fruktose zu schließen. Eine zweite Serie von Schnitten wird nun mit Phenylhydrazin geprüft. Bei positivem Ausfall kann sowohl Fruktose als auch Glykose die Osazonbildung veranlassen haben. Aus dem Ausfall der ersten Versuchsreihe war aber schon zu ersehen, ob Fruktose vorhanden war oder nicht. Endlich wird eine dritte Serie von Schnitten mit Phenylhydrazin 1—1½ Stunden am kochenden Wasserbade erwärmt. Hierbei wird Saccharose und zum Teil auch Maltose durch die Einwirkung des Glycerins invertiert. Tritt im Vergleich zu den Versuchen von 1 und 2 eine bedeutende Vermehrung der Osazonbildung ein, so deutet dies auf Rohrzucker und Maltose. Ist Maltose vorwiegend vorhanden, so gibt, da sie bei der Inversion in zwei Moleküle Glykose zerfällt, Methylphenylhydrazin keine Vermehrung der Fruktose-Methylphenylosazone. Zu dem kommt, daß das Methylphenylosazon ganz charakteristische, von den übrigen Osazonen abweichende Kristalle, nämlich flache breite Einzelnadeln gibt. Auf diese Weise konnte GRAFE z. B. in der Birnenfrucht, im Blütenboden der Tulpe, der Hyazinthe und im grünen Blatt von *Allium Cepa* Dextrose, Fruktose und Saccharose nebeneinander nachweisen und bei verschiedenen Pflanzen zeigen, wie diese Zuckerarten je nach dem Entwicklungsgange der Pflanze oder beim Treiben und Keimen ineinander übergehen.

4. Andere Reaktionen. Nach BAYER (I) und G. HOPPE-SEYLER (I) wird Orthonitrophenylpropionsäure bei Anwesenheit von schwachen Alkalien, z. B. kohlensaurem Natrium, durch Traubenzucker in der Wärme zu Indigo reduziert, und KNUTH (I) hat diese Reaktion mit Erfolg benutzt, um reduzierenden Zucker in Blüten nachzuweisen und auf chemischem Wege zweifelhafte Nektarien in verschiedenen Blüten aufzufinden. Weitere systematische Untersuchungen müssen lehren, ob diese Reaktion eindeutig ist und ob sie sich für den mikrochemischen Nachweis von reduzierendem Zucker im Pflanzengewebe überhaupt eignet.

Auf die von KRAUS (I) empfohlene sogenannte morphologische Zuckerreaktion, die darauf beruht, den Zucker durch wasserentziehende Mittel, wie Alkohol und Glycerin, in Form von starkglänzenden Siruptröpfchen in den Zellen auszuschcheiden, will ich nicht näher eingehen, weil sie zu unsicher ist und mit den modernen Methoden nicht konkurrieren kann.

Auch will ich mit Rücksicht auf die weite Verbreitung des Zuckers mich nicht mit der Anführung spezieller Vorkommnisse desselben beschäftigen, sondern mich diesbezüglich mit dem Hinweis auf das einschlägige Kapitel bei CZAPEK (III, 188) begnügen.

Beim Nachweis des Zuckers muß kritisch vorgegangen werden; man muß beachten, daß nicht immer nativer Zucker angezeigt werden muß, sondern daß durch Enzyme namentlich beim Eintrocknen von Drogen oder durch Erwärmen der Reagentien Zucker auch aus Glykosiden abgespalten werden kann und daß viele Zuckerreaktionen durchaus nicht eindeutig sind.

#### b) Inulin.

Der Begriff Inulin hat sich nach und nach zu einem Gruppenbegriff entwickelt. Man versteht darunter mehrere, schwer unterscheidbare, nahe verwandte, linksdrehende Kohlehydrate, die durch starken Alkohol in Form von Sphärökristallen gefällt werden, sich mehr oder minder in Wasser ohne Kleisterbildung lösen und häufig in unterirdischen Organen als Reservestoffe in gelöster Form aufgestapelt werden. Den Botaniker interessiert hauptsächlich das Inulin par excellence, das namentlich für die Familie der Compositen charakteristisch ist und auch hier im Rhizom vom *Inula Helenium* entdeckt wurde

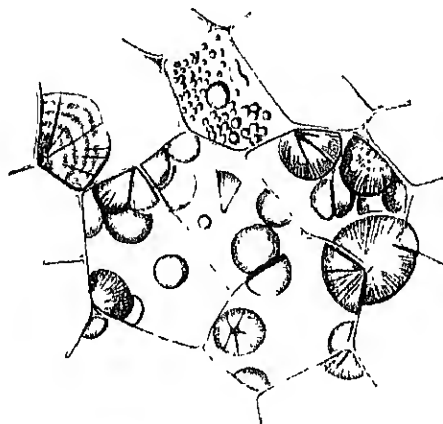


Fig. 52.  
Inulinsphäriten im Parenchym der Wurzelknolle von *Dahlia variabilis*. Alkoholpräparat  
Vergr. 180

#### Nachweis des Inulins $6(C_6H_{10}O_5) \cdot H_2O$ .

1. Fällung durch Alkohol. Das Inulin kommt in der lebenden Pflanze stets gelöst vor. Bringt man auf einen nicht allzu dünnen Schnitt durch die Knolle von *Dahlia variabilis* einen großen Tropfen absoluten Alkohols, so entsteht sofort im Gewebe und seiner Umgebung ein milchiger Niederschlag von kleinen Körnchen, nach etwa 5–10 Minuten tritt stellenweise wieder eine Klärung ein, der feine Niederschlag verschwindet und statt dessen treten größere Kugeln oder, der Wand aufsitzend, Halbkugeln auf, einzeln oder in traubigen Verbänden. Die Kugeln zeigen oft radial verlaufende Sprünge oder konzentrische Schichten; oft macht sich ein kompakterer Kern und rings um diesen eine hellere Schicht bemerklich. Diese Kugeln sind Sphärökristalle des Inulins (Fig. 52). In größerer Menge und in größeren Dimensionen

erhält man die Sphärite, wenn man inulinhaltige Stücke oder ganze Knollen in absoluten Alkohol auf Wochen oder Monate einlegt. Es erscheinen dann die Zellen größerer Gewebekomplexe oft vollständig erfüllt von Inulinsphäriten, von denen einzelne sich auf mehrere Zellen erstrecken können. SACS (II) hat zuerst diese Art des Inulinnachweises in die Mikrochemie eingeführt und genauer studiert.

Die bei dieser Art des Nachweises auftretenden Sphärite geben häufig gar nicht den Ort an, wo das gelöste Inulin früher seinen Sitz hatte. Will man die Abscheidung mehr lokalisieren, d. h. die Verteilung kennen lernen, so empfiehlt es sich, die Pflanzenteile austrocknen zu lassen und das Inulin durch langsamen Wasserentzug zur Abscheidung zu bringen (PRANTL I, 39).

Die Inulinsphärite sind doppelbrechend, reduzieren FEHLINGS Lösung nicht, sind in absolutem Alkohol, Äther, Schwefelkohlenstoff, Benzin und Glycerin unlöslich, in kaltem Wasser schwer, in heißem leicht löslich. Die Löslichkeit in kaltem Wasser nimmt nach LEITGEN (I) mit dem Alter der Sphärite ab.

2. Mit  $\alpha$ -Naphthol oder Thymol. Behufs sicherer Erkennung des Inulins kann man auch die beiden Zuckerproben von MOLISCH (III) heranziehen, da ja noch zahlreiche andere Stoffe nach Behandlung der Gewebe mit Alkohol in Form von Sphäriten herausfallen können. Inulinsphärite zeichnen sich durch die bemerkenswerte Eigenschaft aus, mit  $\alpha$ -Naphthol und Schwefelsäure sofort tief violett zu werden. Bei Verwendung von Thymol anstatt  $\alpha$ -Naphthol lösen sie sich unter Rotfärbung auf. Bei der Ausführung der Reaktion ist darauf zu achten, daß die Schnitte nicht mit Wasser benetzt, sondern direkt der Reaktion unterworfen werden.

3. Orcinprobe. Wenn man nach GREEN (I) Inulinsphärite enthaltende Schnitte mit einer alkoholischen Orcinlösung, hierauf mit starker Salzsäure behandelt und erwärmt, so lösen sich die Inulinsphärite auf und der Schnitt färbt sich orangerot. Mit Phloroglucin entsteht unter sonst gleichen Umständen eine mehr braune Farbe.

Nach meinen Erfahrungen ist es vorteilhafter, anstatt Salzsäure konzentrierte Schwefelsäure zu verwenden. Man erspart das Erwärmen, die Reaktion tritt sofort und in einem intensiveren orangeroten Farbenton auf.

4. Die Pyrrogallol- und Resorcinprobe. TUNMANN (I) empfiehlt Pyrrogallol- und Resorcinsalzsäure (0,1 g in 5 g Alkohol und 5 g konzentrierter Salzsäure) zum Nachweis des Inulins. Erstere färbt bei kurzem, gelindem Erwärmen (kein Kochen) violettrot, letztere zinnoberrot. Leider muß diesem Nachweis eine sehr umständliche Vorbehandlung der Präparate vorhergehen, bestehend in einer achtägigen Behandlung mit Weinsäure-Alkohol behufs Entfernung der Alkaloide, in einem möglichst langen (8–10 Wochen!) Aufenthalt in Alkohol behufs Härtung des Inulins und in einem Auswaschen mit Wasser zur Entfernung des Zuckers.

Wie bereits bemerkt, treten nach Behandlung mit Alkohol in den Geweben verschiedener Pflanzen Sphärite auf (vgl. p. 56), die aber trotz ihrer äußeren Ähnlichkeit nicht aus Inulin bestehen. So hat z. B. LEITGEN (II, 230) darauf aufmerksam gemacht, daß bei Dahliaknollen neben Inulinsphäriten und Tyrosinkristallen sich auch solche von

phosphorsaurem Kalk bilden können. Besonders in solchen Fällen, wo es sich darum handelt, Inulinsphärite von anderen zu unterscheiden, werden die Proben 2 und 3 mit Vorteil zur Entscheidung herangezogen werden können: doch immer mit der nötigen Reserve, weil ja die MOLISCH-Reaktion eine Klassenreaktion darstellt und auch Orcin mit anderen Kohlehydraten leicht ähnliche Farbenreaktionen gibt. Man muß darauf achten, daß der Sphärit sich schon im Auflösen oder, wenn er sich zu rasch löst, daß sich seine nächste Umgebung färbt.

Sphärite von Hesperidin unterscheiden sich von denen des Inulin unter anderem dadurch, daß sie im heißen Wasser unlöslich sind und sich in Alkalien mit gelber Farbe lösen.

#### Vorkommen.

Das Inulin spielt als Bau- und Reservestoff ähnlich dem Zucker und der Stärke bei gewissen Familien eine wichtige ernährungsphysiologische Rolle. II. FISCHER (I) hat eine genaue, zum Teil auf eigenen Untersuchungen fußende Zusammenstellung über die Verbreitung dieses Kohlehydrates gegeben, der ich folgendes entnehme. Inulin wurde bisher bei folgenden Familien aufgefunden. Compositae, Campanulaceae, Lobeliaceae, Goodeniaceae und Stylidiaceae. In diesen Familien ist das Inulin weit verbreitet, so daß sich hier die Verwandtschaft der Arten, Gattungen und Familien auch durch ihren Chemismus kundgibt. Das Inulin ist aber durchaus nicht auf den erwähnten Verwandtschaftskreis beschränkt, sondern ist auch bei einzelnen Gattungen konstatiert worden, die den genannten Familien sehr fern stehen. Es gehören hierher die Violaceae *Jonidium commune* H. HIL. und andere *Jonidium*-Arten, *Diosphyllum lusitanicum* Lk., *Leucojum vernum* L., *Galanthus nivalis* L. und die Algen *Acetabularia mediterranea* Lam., *A. crunculata* Lam., *Botryophora occidentalis* J. G. Ag. und *Polyphysa Peniculus* Ag. —

Dem Inulin sehr ähnliche Kohlehydrate. Neben dem Inulin gibt es noch eine Reihe sehr nahe verwandter Kohlehydrate, die von gewissen Pflanzen gleichfalls als Reservestoff in gelöster Form gespeichert werden und die man mit dem Inulin zur Inulingruppe vereinigt hat (ABDERHALDEN I, 184).

Diese Körper gehen auch bei der Hydrolyse Fructose und sind unter den Namen Phlein, Triticin, Gramin, Seilin, Sinistrin und Iristin beschrieben worden. Sie unterscheiden sich vom Inulin durch größere Löslichkeit bei vermutlich geringerem Molekulargewicht, stärkere Linksdrehung ihrer Lösungen und durch die geringe Tendenz, Sphärite zu bilden. Man fand diese Kohlehydrate bei verschiedenen Monocotylen. *Phleum pratense* L., *Triticum repens* L., *Phalaris arundinacea* L., *Trisetum alpestre* P. B., in den Gattungen *Agrostis*, *Calamagrostis*, *Festuca*, *Avena*, ferner bei *Urginea maritima* Baker, *Cordylina australis* Hook., *C. rubra* Hüttel, *Yucca filamentosa* L., *Iris Pseudacorus* L. und *I. sibirica*. Als H. FISCHER (I, 87) Rhizomstücke von *Phleum*, *Triticum*, *Cordylina*, *Yucca* und *Iris Pseudacorus* für längere Zeit in starken Alkohol einlegte, erhielt er keine Sphärite, sondern nur schaumig-geronnene Massen, die den Zellwänden anlagen.

#### c) Glykogen ( $C_6H_{10}O_5$ )<sub>n</sub>.

Dieses im Tierreich so häufig vorkommende Kohlehydrat wurde von ERRERA (I, II) auch bei zahlreichen Pilzen (Ascomyceten, Muco-



rineen und Basidiomyceten) und später von anderen Forschern auch bei vielen Cyanophyceen mikrochemisch nachgewiesen.

Das Glykogen ist ein schneeweißes amorphes Pulver, in Wasser mit starker Opaleszenz leicht löslich, die Lösung ist eine kolloidale. Es wird aus der Lösung durch  $\text{Ba(OH)}_2$ , Essigsäure, Gerbsäure und Phosphorwolframsäure gefällt, reduziert nicht FEHLINGS Lösung und wird durch verdünnte Säuren schließlich in Dextrose umgewandelt.

#### Nachweis.

1. Mit Jodlösung. Das Glykogen hat die Eigenschaft, mit wässriger Jodlösung eine rotbraune oder mahagonibraune Farbe anzunehmen. ERRERA bringt die zu prüfenden Objekte in eine Jodjodkaliumlösung von bestimmter Konzentration (Jod 0,1 g, Jodkalium 0,3 g, destilliertes Wasser 45 g). Bei Gegenwart von Glykogen färbt sich der Zellinhalt in der angegebenen Weise. Beim Erwärmen der Objekte auf 50 bis 60° C verschwindet die Färbung, um beim Abkühlen wieder zu erscheinen. Die schwach gelbe Färbung des Plasmas ändert sich hierbei nicht. Aus der Tiefe der Färbung läßt sich annähernd ein Schluß auf die Menge des vorhandenen Glykogens ziehen. Bei der Deutung dieser Reaktion wird man namentlich bei schwacher Färbung, die ja auch vom Plasma oder Eiweiß herrühren kann, vorsichtig sein müssen. Nur bei relativ stark brauner Färbung wird man mit großer Wahrscheinlichkeit auf Glykogen schließen können, besonders wenn die mikrochemische Reaktion durch die makrochemische unterstützt wird und man auf die Gesamtheit der Eigenschaften des Glykogens achtet.

Es ist nicht gleichgültig, welche Jodkonzentration man verwendet. Die Lösungen dürfen nicht zu konzentriert sein, weil sich dann neben dem Glykogen noch andere Substanzen braun färben. WILK (I) empfiehlt eine Lösung von 6 g Jodkalium, 2 g Jod und 120 g Wasser. Durch diese Lösung wird das Plasma der Hefe schwach gelb, das Glykogen aber tief braunrot gefärbt. ZIKES (I) erhielt bei einer vergleichenden Prüfung die besten Resultate mit der LUGOSCHEN Lösung (ein Teil Jod, zwei Teile Jodkalium und 300 Teile Wasser).

2. Tannin-Safraninfärbung des Glykogens. Diese Reaktion wurde von A. FISCHER (I) angegeben, für Cyanophyceen ausprobiert und beruht im wesentlichen darauf, das Glykogen durch Tannin zu fällen, die Fällung, die sich im Wasser wieder auflösen würde, durch Kaliumbichromat dauernd fast unlöslich zu machen und zu färben. FISCHER geht in folgender Weise vor. Er fixiert die Objekte in Alkohol, legt sie für 5 bis 10 Minuten in eine 10proz. wässrige Tanninlösung, dann in eine 1proz. und hierauf 5 bis 10 Minuten in eine 10proz. Kaliumbichromatlösung. Nun ist die Glykogentanninfällung soweit unlöslich geworden, daß man mit Wasser abspülen und färben kann. Sehr gute Färbung erzielt man mit wässriger Methylenblau- oder Gentianaviolettlösung; die brillianteste Färbung aber gibt Safranin-Anilinwasser, in das die Objekte auf 10 Minuten eingetaucht werden. Wenn die Objekte hierauf in Wasser abgespült, in Alkohol, Xylol entwässert und dann in Balsam eingelegt werden, so erscheint das Glykogen in leuchtend roten, kugeligen oder unregelmäßigen Massen und hebt sich vom übrigen Zellinhalt, der nicht oder nur wenig gefärbt ist, scharf ab.

Für den Nachweis des Glykogens in tierischen Objekten hat man auch noch andere Färbungsmethoden ausgearbeitet, so die Gentianaviolettgefärbung nach LUBARSCHE (I) und die Karminmethode nach BEST (I), doch gehe ich nicht näher darauf ein, da diese Methoden auf die Pflanze noch zu wenig angewendet worden sind und da allen diesen Färbungsmethoden naturgemäß eine gewisse Unsicherheit anhaftet. Die Färbung ist ja keine für das Glykogen spezifische, sondern es werden auch andere Substanzen der Zelle gefärbt. Bei der Interpretation dieser Farbenreaktionen muß ganz besonders auf die Form und die Lagerung des Glykogens geachtet und die Jodprobe immer vergleichend zu Rate gezogen werden.

#### Vorkommen.

Das Glykogen stellt in Tieren einen wichtigen Vorratsstoff („tierische Stärke“) dar und findet sich hier im Knorpel, Muskel und insbesondere in der Leber vor. Im Pflanzenreiche hat man es bisher nur bei Pilzen und Cyanophyceen gefunden. ERUERA hat es in der Bierhefe, bei Ascomyceten, Basidiomyceten und Phycomyceten nachgewiesen. „Le Glycogène est l'amidon des Champignons“ FENSCH (I) fand bei allen untersuchten Myxomyceten Glykogen. Den Rostpilzen scheint es zu fehlen. Auch in gewissen Bakterien kommt nach A. MEYER (III) Glykogen oder ein diesem nahestehendes Kohlehydrat vor. Quantitative Untersuchungen über die Menge des Glykogens verdanken wir CLAUTRIAU (I). Er fand im Steinpilz 20%, im Fliegenpilz 11% und in Bierhefe mehr als 31% Glykogen, bezogen auf die Trockensubstanz.

Das Glykogen vertritt auch bei den Cyanophyceen die Stelle der Stärke. Anknüpfend an ältere Beobachtungen konnte HIEGLER (I) zeigen, daß Glykogen bei Belichtung sich in den Zellen von *Oscillaria limosa* vermehrt, bei Verdunkelung aber allmählich verschwindet. Ähnliches beobachtete KOHL (I), und A. FISCHER konnte mit Hilfe der von ihm vorgeschlagenen Probe dartun, daß das Glykogen bei den Cyanophyceen das erste nachweisbare Assimilationsprodukt darstellt und im Chromatophor gebildet wird. Von hier wandert es aus und wird im Zentralkörper der Zelle gespeichert oder in ein anderes Kohlehydrat, in das von FISCHER entdeckte Anabaenin, umgewandelt.

#### d) Anabaenin.

Bezüglich der Bakterien und Cyanophyceen wird noch heute darüber gestritten, ob sie einen Kern besitzen oder nicht. HIEGLER (I) und KOHL (I) betrachten den Zentralkörper der Cyanophyceen als echten Kern, jedoch ohne Wand und Nukleolus, während A. FISCHER (I) diese Ansicht entschieden bekämpft und die mitosenartigen Körper, die man in der Cyanophyceenzelle namentlich bei ihrer Teilung häufig sieht, für ein neues Kohlehydrat, das Anabaenin hält. Nach FISCHER bestehen die Zentralkörper und die Pseudomitosen aus dem Anabaenin, es ist das spezifische Kohlehydrat der Cyanophyceen wie etwa das Paramylon bei den Euglenen. Er (I, 113) charakterisiert das Anabaenin wie folgt: „Farblos, stark glänzend, unlöslich in kaltem und kochendem Wasser, unlöslich in Kochsalz, konzentriertem Magnesiumsulfat, 20proz. Kupfersulfat und anderen Salzlösungen, unverdaulich in Pepsin- und Pankreasglyzerin, unlöslich in konzentriertem Ammoniak und konzentrierter Essigsäure, in Alkohol, Xylol, Äther, Toluol, Chloroform, farblos quellbar in Kupferoxydammon, farblos in Chlorzinkjod, unlöslich in stark verdünnten Mineralsäuren, sofort löslich in kon-

zentrierten, langsam löslich in 5proz. Kali, färbt sich nicht mit Jod- und Karminlösungen, färbt sich schwach, nicht chromatinähnlich, mit Safranin, Gentiana, Jod- und Methylgrün, mittelstark mit DELAFIELDS Hämatoxylin, gut mit Methylenblau und sehr intensiv mit Eisenaalaun-hämatoxylin<sup>4</sup>.

Das Anabaenin findet sich im Zentralkörper in Form von kugelförmigen oder scheibenförmigen Gebilden, den Zentralkörnern oder in Gestalt von Knäueln und chromosomenähnlichen Körpern, die bei der Zellteilung Mitosen vortäuschen. — Heiße 10proz. Mineralsäuren oder 5proz. Oxalsäure, Jodkalium oder Chlorzinkjod verwandeln das Anabaenin teilweise in Glykogen, aus dem es auch entstanden ist. Durch ein in der Cyanophyceenzelle vorhandenes Ferment, die Anabaenase, wird das Anabaenin schon in sehr kurzer Zeit (10 bis 15 Minuten) wahrscheinlich in Zucker verwandelt.

Erwähnt sei noch, daß das Anabaenin anisotrop erscheint und nach FISCHER hierdurch das Bild der sogenannten Gasvakuolen (vgl. p. 69) veranlassen soll, die bei Druck oder Einwirkung verschiedener Stoffe verschwinden, indem sie ihre mizellare Struktur verändern.

## VII. Schwefelverbindungen.

Es sind bisher nur wenige Versuche unternommen worden, organische Schwefelverbindungen der Fettreihe mikrochemisch nachzuweisen. Sie betreffen das Knoblauchöl und die Senföle.

a) Knoblauchöl = Allylsulfid  $C_3H_5S = (C_3H_5)_2S$ .

Spezifische Reaktionen für dieses Öl kennt man nicht. VOGT (1) benutzt die von WERTHEIM (1) seinerzeit für diesen Körper angegebenen Reaktionen, um die Verteilung des Knoblauchöls in der Pflanze mikrochemisch zu prüfen. Es sind dies folgende:

Platinchlorid gibt mit Knoblauchöl einen reichlichen gelben Niederschlag.

Quecksilbersalze liefern eine weißliche Fällung.

Salpetersaures Palladiumoxydul gibt kermesbraunen Niederschlag.

Salpetersaures Silber (1 bis 2%) liefert eine feinkörnige Fällung von Schwefelsilber.

Goldchlorid gibt einen gelben Niederschlag.

Konzentrierte Schwefelsäure färbt das Öl schön rot.

Die besten Resultate geben nach VOGT die Silbernitratlösung und Palladiumoxydulsalze (Nitrat in fast wasserheller Verdünnung), während die anderen Reaktionen zu keinen präzisen Ergebnissen führen.

Geprüft wurden *Allium Cepa*, sativum, porrum, *Schoenoprasum moly*, *Victoralis*, *ursinum*, *fistulosum*, *urceolatum* und *coerulescens*. Es wurden entweder dünne Schnitte auf dem Objektträger untersucht oder es wurden ganze Pflanzenteile in die Lösung eingelegt. Das Eindringen dieser wurde unter der Luftpumpe beschleunigt, und hierauf wurden Schnitte angefertigt, eventuell nach vorhergehender Härtung in Alkohol.

In der Epidermis der Zwiebelschuppe von *Allium sativum* und in den die Gefäßbündel umschließenden Zellen liegen stark licht-

brechende Tropfen und eben diese Zellen sind es, die mit Silbernitrat eine schwarze Fällung geben. Sie läßt sich auch in den Zellen der Wurzelhaube junger Wurzeln beobachten, dann in der Oberhaut und dem subepidermalen Rindenparenchym, hier und in den Durchlaßzellen auch bei alten Wurzeln. In geringem Maße auch in der Oberhaut und der Umgebung der Leitbündel der Stengel und Blätter. — Wurzeln von Wasserkulturen zeigen die Reaktion mit Silbernitrat nach wenigen Sekunden. Die anderen *Allium*-Arten geben im wesentlichen dieselben Resultate, und zwar fand VOIGT das Knoblauchöl:

1. In der Epidermis und der Gefäßbündelscheide der Stengel, Blätter und Zwiebelschuppen.

2. In der Gefäßbündelscheide der Blütenteile.

3. In den Durchlaßzellen der äußeren Endodermis der Wurzel und in der Wurzelhaube.

4. In der Frucht- und Samenschale.

5. In der den Embryo umgebenden Zellschicht des Endosperms.

*Allium ursinum* verhält sich wie die anderen Arten, doch enthält nach SEMMLER (I) diese Art nicht Allylsulfid, sondern Vinylsulfid ( $C_2H_5S$ ).

Die erwähnten Reaktionen sind natürlich nicht eindeutig. Das Silbernitrat könnte ja auch durch Aldehyd zu metallischem Silber oder durch Gerbstoffe oder Glykose zu schwarzbraunem Oxydul reduziert werden. Aber die von VOIGT gemachten Kontrollversuche sprachen durchwegs zugunsten der Ansicht, daß die erhaltenen Reaktionen durch das Knoblauchöl bedingt waren.

Von weiteren Vorkommnissen des Allylsulfids wären noch zu erwähnen, *Thlaspi arvense*, *Thlaspi amara* (Kraut und Samen), *Capsella bursa pastoris* (Same), *Allium officinale*. Schwefelhaltige Öle vom Allylsulfidtypus wurden auch in *Lepidium*-Arten, *Raphanus sativus*, Samen von *Brassica Napus* L., *Cochlearia Diaba* und *Cheiranthus annuus* L. nachgewiesen. Neueren Angaben zufolge soll im Knoblauchöl und in *Allium officinale* nicht Allylsulfid, sondern Allyldisulfid vorhanden sein (ANDER-HALDEN II, 931).

Da man in sehr vielen Fällen von dem Knoblauchöl in der lebenden Pflanze direkt nichts sieht, erscheint es nicht unwahrscheinlich, daß wenigstens ein großer Teil des Öls erst postmortal durch Spaltung, analog den Senfölen, aus komplizierteren Schwefelverbindungen vielleicht enzymatisch entsteht. Diese Vermutung wäre genauer zu prüfen.

#### b) Senföle.

Man versteht darunter organische Schwefelverbindungen, die als Ester einer hypothetischen Isothiocyansäure aufgefaßt werden, in denen Alkyl an Stickstoff gebunden ist und denen daher folgende Struktur zukommt  $C \begin{smallmatrix} N.R. \\ S \end{smallmatrix}$ . Die Senföle sind stechend riechende, unzersetzt flüchtige Flüssigkeiten, die auf der Haut Blasen ziehen und sich im Wasser wenig oder gar nicht lösen. Besonderes Interesse verdient das Allylsenföl  $C_3H_5NCS$ , das aus myronsaurem Kalium, einem Glykosid, durch das Ferment Myrosin abgespalten wird.

Mikrochemische Reaktionen für dieses namentlich bei den Cruciferen und deren nächsten Verwandten häufig auftretende Senföl sind

derzeit nicht bekannt. Die von SOLLA (I) empfohlenen haben sich, wie MOLISCH (II, 33) seinerzeit schon hervorhob, leider nicht als brauchbar erwiesen.

Über die Beziehungen des Allylsenföls zu seinem Glykosid und zu dem Ferment Myrosin wird später noch ausführlich die Rede sein.

## Literatur

zu p. 105 bis 142.

- Abderhalden, E., I. Biochemisches Handlexikon. Bd. II, 1911, p. 184.  
 —, II. Ebenda, Bd. IV, p. 931.  
 Adami, J. G. u. Aschoff, L., I. On the myelins, myelin bodies and potential fluid crystals of the organism. (Proc. Royal. Soc. 1906, Bd. LXXVIII, p. 359.)  
 de Bary, I. Über die Wachstumszüge der Epidermis. (Bot. Ztg. 1871, Jg. 29, p. 128.)  
 —, II. Vgl. Anatomie der Vegetationsorgane usw. Leipzig 1877, p. 86.  
 Behrens, H., I. Mikrochemische Analyse organischer Verbindungen. Heft IV.  
 —, II. Ebenda, Heft I.  
 Beneke, I. Studien über das Vorkommen, die Verbreitung und die Funktion von Gallenbestandteilen usw. Gießen 1862.  
 Best, I. Verhandlungen der italien. patholog. Gesellschaft. 1901.  
 Baeyer, A., I. Ber. d. d. chem. Gesellschaft. Bd. XIII, p. 2260 u. Bd. XIV, p. 1741.  
 Bergmann, E., I. Über das Vorkommen der Ameisensäure und Essigsäure in den Pflanzen usw. (Bot. Ztg. 1882, Jg. 40, p. 731.)  
 Blasdale, I. Justs bot. Jahresber. 1893, Bd. I, p. 317.  
 Borodin, J., I. Über die mikrochemische Nachweisung und die Verbreitung des Dulcits im Pflanzenreich. (Revue des Scienc. Nat. publ. p. I. Société d. Natural. d. St. Petersbourg. 1890, No. 1, p. 26—31; Refer. i. Biol. Zbl. 1890, Bd. XLIII, p. 175.)  
 —, II. Über die physiologische Rolle und die Verbreitung des Asparagins im Pflanzenreiche. (Bot. Ztg. 1878, Jg. 36, p. 801.)  
 —, III. Über Sphärokrystalle aus *Paspalum elegans* und über die mikrochemische Nachweisung von Leucin. (Arbeiten d. St. Petersburger naturf. Ges. Bd. XIII, Lfg. I, p. 47—60; Refer. Bot. Zbl. 1884, Bd. XVII, p. 102.)  
 Brücke, E., I. Über den Zusammenhang zwischen der freiwilligen Emulgierung der Öle und dem Entstehen sogenannter Myelinformen. (Sitzungsber. d. Kais. Akad. d. Wiss. i. Wien. 1870, III. Abt., p. 268.)  
 Brunswik, H., I. Die Mikrochemie der Flavonextrakte bei den Pinnulinas. Sitzungsber. d. Akad. d. Wiss. i. Wien 1922.  
 Buscalioni, L., I. Der Sudan III und seine Verwendung in der botan. Mikrochemik. (Bot. Zbl. 1898, Bd. LXXVI, p. 398.)  
 Classen, A., I. Handbuch der qualitativen chemischen Analyse. 6. Aufl. Stuttgart 1906, p. 308.  
 Clautriau, G., I. Etude chimique du glycogène chez les champignons et les levures (Mém. cour. et autr. Mém. p. l'Acad. roy. d. Belg. 1895, 3./III.)  
 Czapek, F., I. Zur Lehre von den Wurzelabscheidungen. (Jahrb. f. wiss. Bot. 1896, Bd. XXIX, p. 335 u. 340.)  
 —, II. Über die Leitungswege der organischen Baustoffe im Pflanzenkörper. (Sitzungsber. d. Kais. Akad. d. Wiss. i. Wien 1897, Bd. CVI, p. 14 d. Sep.-Abdr.)  
 Czapek, F., III. Biochemie, 1913, Bd. I, p. 240.  
 —, IV. Über die Methode z. direkten Bestimmung der Oberflächenspannung der Plasmahaut von Pflanzenzellen. Jena 1911, p. 8.

- Emich, F., I. Lehrbuch der Mikrochemie. Wiesbaden 1911, p. 144.
- Ensch, I. Le glycogène chez les Myxomycètes. (Recueil de l'institut botanique Bruxelles, 1899, Bd. I, p. 297.)
- Errera, L., I. Sur le Glycogène chez les Basidiomycètes. (Extraits d. Bull. 3. sér., T. VIII, no. 12, 1884 et des mémoires de l'Acad. Roy. d. Belgique, T. XXXVII, 1885.)
- , II. Über den Nachweis des Glykogens bei Pilzen. (Bot. Ztg. 1889, Jg. 44, p. 316.)
- Fischer, A., I. Beiträge zur Physiologie der Holzgewächse. (Jahrb. f. wiss. Bot. 1891, Bd. XXII, p. 74.)
- , II. Die Zelle der Cynophyceen. (Bot. Ztg. 1905, Jg. 63, p. 65.)
- Fischer, E., I. Die Synthesen in der Zuckergruppe. (Ber. d. deutschen chem. Ges. 1890, Bd. XXIII, p. 2114 usw.)
- Fischer, H., I. Über das Inulin, sein Verhalten außerhalb und innerhalb der Pflanze usw. (Beitr. z. Biol. d. Pflanzen 1898, Bd. VIII, p. 53.)
- Gieblor, R., I. Die Lokalisation der Oxalsäure in der Pflanze. (Jena 1893 Sonderabdr. a. d. Jenaischen Ztschr. f. Naturw.)
- Grafe, V., I. Studien über den mikrochemischen Nachweis verschiedener Zuckerarten in den Pflanzengeweben mittels der Phenylhydrazinmethode (Sitzungsber. d. Kais. Akad. d. Wiss. i. Wien 1905, Bd. CXIV, Abt. I, p. 15.)
- Green, J. H., I. On the germination of the tuber of the Jerusalem Artichoke [*Helianthus tuberosus*]. (Annals of Botany 1, p. 223.)
- Hartig, Th., I. Entwicklungsgeschichte des Pflanzenkeims usw. Leipzig 1858, p. 126.
- Hartwich, C., u. Uhlmann, W., I. Über den Nachweis fetter Öle durch mikrochemische Verseifung. (Arch. f. Pharm. 1903, Bd. CCLII, p. 111.)
- Harvey-Gibson, I. Note on the Anatomy and Herbal History of *Symphytum offic* (Pharm. Journ. London 1912, Bd. I, p. 91.)
- Haushofer, K., I. Mikroskopische Reaktionen. Braunschweig 1885, p. 16.
- Hogler, R., I. Untersuchungen über die Organisation der Phykochemoecenzelle (Jahrb. f. wiss. Bot. 1901, Bd. XXXVI, p. 229.)
- Hoffmeister, C., I. Über den mikrochemischen Nachweis von Rohrzucker in pflanzlichen Geweben (Jahrb. f. wiss. Bot. 1897, Bd. XXXI, p. 688.)
- Hoppe-Seyler, G., I. Beiträge zur Kenntnis der Indigo bildenden Substanzen im Harn usw. (Ztschr. f. physiol. Chem. 1882/83, Bd. VII, p. 403.)
- Klein, G., I. Der histochemische Nachweis der Flavone (Sitzungsber. d. Akad. d. Wiss. i. Wien, Bd. CXXXI, 1922, p. 23.)
- Klotzsch, I. Über Pseudostearoptene, welche auf der Außenseite der Pflanze vorkommen (Monatsber. d. Berliner Akad. Dez. 1851.)
- Knoll, F., I. Fettes Öl auf den Blütenepidermen der Gypripedilinae. (Österr. bot. Ztschr. 1922, p. 120.)
- Knuth, P., I. Über den Nachweis von Nektarien auf chemischem Wege (Bot. Zbl. 1898, Bd. LXXVI, p. 76.)
- Kosmann, I. Journ. Pharm. (2), 1854, Bd. XXVI, p. 107.
- Kraus, G., I. Über das Verhalten des Zuckersaftes der Zellen gegen Alkohol und Glycerin und die Verbreitung des Zuckers. (Bot. Ztg. 1876, p. 604.)
- Kretz, F., I. Über den mikrochem. Nachweis von Tryptophan i. d. Pflanze. (Bioch. Ztschr. 1922, Bd. CXXX, p. 86.)
- Kroemer, K., I. Wurzelhaut, Hypodermis und Endodermis der Angiospermenwurzel. (Bibliotheca botanica, 1903, Heft 59, p. 9.)
- Loitgeb, H., I. Über die durch Alkohol in Dahliakeimlingen hervorgerufenen Ausscheidungen. (Bot. Ztg. 1887, p. 136.)

- Loitgeb, H., H. Der Inhalt der Dahlia knollen an Asparagin und Tyrosin. (Mitteil. a. d. bot. Inst. z. Graz. Heft II, p. 215.)
- Linsbauer, K., I. Bemerkungen über A. Fischers „Gefäßglykose“. (Sitzungsber. d. Akad. d. Wiss. i. Wien. Abt. I, Bd. CXXIX, S. 215.)
- Loew, O., I. Ninhydrin als mikroch. Reagens auf Aminosäuren. (Flora 1918, p. 262.)
- Lubarsch, I. Ergebnisse d. allgemeinen Pathologie 1895, Jg. I, Abt. II.
- MacDougal, I. On the poisonous influence of *Cypripedium spectabile* and *C. pubescens*. (Minnesota Botanical Studies 1894, p. 32.)
- , II. Poisonous influence of various species of *Cypripedium*. (Ebenda 1895, p. 450.)
- Meyer, A., I. Archiv f. Pharm. 1870, III. Reihe, Bd. XV, p. 97.
- , II. Mikrochemische Reaktion zum Nachweis der reduz. Zuckerarten. (Ber. d. deutsch. bot. Ges. 1885, Bd. III, p. 332.)
- , III. Über Geißeln, Reservestoffe, Kerne und Sporenbildung der Bakterien (Flora 1899, Bd. LXXXVI, p. 440—448.)
- Meyer, H., I. Analyse und Konstitutionsermittlung organischer Verbindungen 2. Aufl. Berlin 1909.
- Mikosch, K., I. Vegetabilisches Wachs, in J. Wiesner: Die Rohstoffe des Pflanzenreichs, II. Aufl. 1900, Bd. I, p. 525.
- Moebius, M., I. Über Wachsausscheidung im Innern der Zellen. (Ber. d. Deutsch. bot. Ges. 1897, Bd. XV, p. 435.)
- Molisch, H., I. Über ein einfaches Verfahren, Pflanzen zu trocknen (Warmbadmethode.) II. Teil. (Sitzungsber. d. Kais. Akad. d. Wiss. in Wien 1909 Bd. CXVIII, Abt. I, p. 686.)
- , II. Grundriß einer Histochemie der pflanzlichen Genußmittel. Jena 1891.
- , III. Zwei neue Zuckerreaktionen. (Sitzungsber. d. Kais. Akad. d. Wiss. in Wien 1886, Bd. XCIII, Abt. II, p. 912.)
- , IV. Zur Kenntnis meiner Zuckerreaktionen. (Zbl. f. med. Wiss. 1887, Nr. 3 u. 4.)
- , V. Eine neue Methode zur Unterscheidung der Pflanzen- von der Tierfaser (Dinglers polytechn. Journ. 1886, Bd. CCLXI, p. 135.)
- , VI. Über den mikrochem. Nachweis und die Verbreitung gelbster Oxalate im Pflanzenreiche. (Flora 1918, Bd. XI, Neue Folge, p. 60.)
- , VII. Über den Wasserkelch von *Aconitum variegatum*. (Ber. d. Deutsch. bot. Ges. 1920, p. 341.)
- , VIII. Über die Ausscheidung von Föttröpfchen auf einer Apfelfrucht (*Malus coriarius*). (Ebenda, p. 305.)
- Monteverde, N. A., I. Über die Verbreitung des Mannits und Duleits im Pflanzenreiche. (Refer. Ztschr. f. wiss. Mikroskopie 1892, Bd. IX, p. 514.)
- Muller, H., I. The occurrence of flavon as the farina of the *Primula*. Journ. of the Chem. Soc. London 1915, Bd. CVII, II, p. 872—878.
- Muller, K., I. Einige Bemerkungen über die harzartigen Ausscheidungen auf den Birken. (Bot. Ztg. 1845, Jg. 3, p. 793.)
- Muller, C. O., I. Beitrag zur Kenntnis der Eiweißbildung der Pflanzen. Inaug.-Diss. d. Leipziger Univ. in d. Landwirt. Versuchsstat. 1881, Bd. XXXIII, p. 311.
- Nestler, A., I. Hautreizende *Primeln*. Berlin 1904.
- , II. Die hautreizende Wirkung der *Primula mollis* Hook. und *P. Arendsii* Pax. (Ber. d. Deutsch. bot. Ges. 1908, Bd. XXVI, p. 468.)
- , III. Das Sekret der Drüsenhaare der Gattung *Cypripedium* mit besonderer Berücksichtigung seiner hautreizenden Wirkung. (Ebenda 1907, Bd. XXV, p. 554.)
- , IV. Myelin und Eiweißkristalle in der Frucht von *Capsicum annuum* L. (Sitzungsber. d. Kais. Akad. d. Wiss. in Wien 1906, Bd. CXV, Abt. I.)

- Nestler, A., V. *Cortusa Matthioli* L., eine stark hautreizende Pflanze. (Ber. d. Deutsch. bot. Ges. 1912, Bd. XXX.)
- Patschovsky, N., Studien über Nachweis und Lokalisierung, Verbreitung und Bedeutung der Oxalsäure im Pflanzenorganismus. Beih. z. Bot. Zbl., Bd. XXVII, Ab. I.
- Pfeffer, W., I. Untersuchung über die Proteinkörner und die Bedeutung des *Asparagins* beim Keimen der Samen. (Jahrb. f. wiss. Bot. 1872, Bd. VIII, p. 533.)
- Prantl, K., I. Das Inulin. München 1870, p. 39.
- Raciborski, M., I. Beiträge zur botanischen Mikrochemie. (Bull. d. Akad. d. Wiss. in Krakau. Math.-naturw. Kl. 1906, p. 553.)
- Reinbold, B., I. Molisch-Udranskysche  $\alpha$ -Naphthol-Schwefelsäure-Reaktion. (Arb. d. ges. Physiol. 1904, Bd. CIII, p. 581.)
- Reinitzer, F., I. Mon. Chem. Bd. IX, p. 421.
- Sachs, J., I. Über einige neue mikrochemische Reaktionsmethoden (Sitzungsber. d. Kais. Akad. d. Wiss. in Wien 1859 und Flora 1862, p. 289.)
- Sachs, J., II. Über die Sphärökristalle in mulinhaltigen Geweben als Mittel zur mikroskopischen Nachweisung dieses Stoffes. (Bot. Ztg 1864, p. 77 u. 85.)
- Schimper, A. F. W., I. Zur Frage nach der Assimilation der Mineralsalze durch die grüne Pflanze. (Flora 1890)
- Schulze, E., I. Ztsch. f. physiol. Chemie 1896, Bd. XXII, p. 411; 1897. Bd. XXIV, p. 18.
- Schulze, E. u. Umlauf, H. Landwirtsch. Versuchsstationen 1875, Bd. XVIII, p. 1.
- Semler, Fr. W., I. Annalen d. Chem. u. Pharm 1887, Bd. CXXLI, p. 92
- Senft, E., I. Über den mikrochemischen Zuckernachweis durch essigsäures Phenylhydrazin. (Sitzungsber. d. Kais. Akad. d. Wiss. in Wien 1904, Bd. CXIII, Abt. I, p. 3)
- , II. Über die Myelinformen bildende Substanz im Ginkgo-Samen. (Pharm. Post Wien 1907)
- Sernander, R., I. Entwurf einer Monographie der europäischen Myrmecochoren Upsala 1906
- Simon, M., I. Über das Balanophorin I (Sitzungsber. d. Kais. Akad. d. Wiss. in Wien, 1910, Bd. CXIX, Abt. II, p. 1161.)
- Solla, R. F., I. Über zwei wahrscheinlich mikrochemische Reaktionen auf Schwefelcyanallyl (Bot. Zbl 1884, Bd. XX, p. 312)
- Stahl, E., Pflanzen und Schnecken Jena 1888 Sonderabdruck a. d. Jenaischen Ztschr. f. Natw., Bd. XXII, N. F. XV
- Stoklasa J. u. Ernest, A., Beitr. z. Lösung der Frage der chemischen Natur des Wurzelssekretes Jahrb. f. w. Bot. 1909, Bd. XLVI, p. 55
- Trommer, I. Liebig's Ann. 1841, Bd. XXXIX, p. 360
- Tunmann, O., I. Zur Mikrochemie des Inulins (Ber. d. Deutschen pharm. Ges. 1910, Bd. XX, p. 577; Refer. i. Chem. Zbl 1911, Jg. 82, p. 496.)
- , II. Zur Mikrochemie und Mikrosublimation einiger Methanderivate (Apotheker-Ztg 1912, Nr. 99/100 (Berlin).
- , III. Nat.-Vers. Karlsruhe 1911.
- , IV. Pflanzenmikrochemie 1913, p. 373.
- Udransky, L. v., I. Ztschr. f. physiol. Chemie 1888, Bd. XII, p. 358.
- Virchow, R., I. Arch. f. path. Anat. u. Phys. 1866, Bd. XXXVI, p. 303.
- Vogl, A. v., I. Pharmakognosie, p. 128
- Vogl, A., I. Untersuchungen über das Vorkommen von Allantoin im Rhizom von *Symphytum offic.* u. anderen Borragineen. Pharm. Post 1918.



- Voigt, A., I. Lokalisierung des ätherischen Öles in den Geweben der Allium-Arten. (Jahrb. d. Hamburgisch-wissensch. Anstalten VI. Arb. d. bot. Mus. 1889; Refer. i. Bot. Zbl. 1890, XLI, p. 202, u. Ztschr. f. wiss. Mikroskopie 1890, Bd. VII, p. 110.)
- Wertheim, J., I. Annal. d. Chem. u. Pharm. 1844, Bd. LI, p. 289.
- Wiesner, J., I. Über die kristallinische Beschaffenheit der geformten Wachstüberzüge pflanzlicher Oberhäute der Epidermis. (Bot. Ztg. 1876, Jg. 34, p. 225)
- , II. Beobachtungen über die Wachstüberzüge der Epidermis (Bot. Ztg. 1871, Jg. 29, p. 769.)
- , III. Anatomie und Physiologie der Pflanzen. V. Aufl. Wien 1906, p. 111.
- Zellner, J., I. Chemie der höheren Pilze. Leipzig 1907.
- Zimmermann, A., I. Die botanische Mikrotechnik. Tübingen 1892, p. 70.
- Zopf, W., I. Zur Kenntnis der Sekrete der Farne. (Ber. d. Deutsch. bot. Ges. 1906, Bd. XXIV, p. 261.)

## b) Aromatische Reihe.

### I. Phenole.

Eugenol,  $C_{10}H_{12}O_2$ .

1. Ein Tropfen Eugenol färbt sich auf dem Objektträger mit konzentrierter Schwefelsäure momentan intensiv braunrot, nach einiger Zeit violett.

2. Konzentrierte Salpetersäure färbt den Eugenoltropfen feuer- oder orange- bis braunrot. So verhält sich auch das Nelkenöl.

3. Gesättigte Kalilauge gibt mit einem Eugenoltropfen alsbald einen Kristallbrei von Kaliumeugenolat (MOLISCH I, 40 und 44).

Die angeführten Reaktionen gelingen auch mit den an Nelkenöl bzw. Eugenol so reichen Schnitten von Gewürznelken sehr gut. Bringt man auf solche Gewebeschnitte einen Tropfen gesättigter Kalilauge — es ist durchaus notwendig, das Reagens im gesättigten Zustande anzuwenden, da im verdünnten keine Kristalle entstehen —, so sieht man zuerst keine wesentlichen Veränderungen, nach einigen Minuten aber wachsen aus jedem Öltropfen rasch zahlreiche, oft recht lange, säulen- oder nadelförmige, farblose Kristalle von Kaliumeugenolat heraus, die im polarisierten Lichte prächtig aufleuchten (MOLISCH I, 40 und 44).

#### Vorkommen.

In zahlreichen ätherischen Ölen: Pimentöl (Frucht von *Pimenta officinalis* Bg.), Gewürznelkenöl (Blütenknospen von *Caryophyllus aromaticus* L.), Kalmusöl (*Acorus Calamus*), Lorbeerblätteröl (*Laurus nobilis*), Ocimum Basilicum-Öl, im Patchouliöl (*Pogostemon Patchouly* Pellett.) und anderen. In der Wurzel von *Gaum urbanum* liegt Eugenol in glykosidischer Bindung vor, aus der es enzymatisch abgespalten wird.

Phloroglucin,  $C_6H_3(OH)_3 + 2H_2O$ .

1. Nach WESELSKY (I) gibt Phloroglucin in verdünnter Lösung mit salpetersaurem Toluidin und wenig salpetrigsaurem Kalium nach einiger Zeit eine gelbliche, dann orangefarbene Färbung und schließlich

scheidet sich ein zinnoberroter Niederschlag ab. Diese Reaktion zeigen aber auch andere Phenole (CAZENEUVE und HUGOUNENQ I).

2. Eine frisch bereitete Lösung von 0,005 g Vanillin in 0,5 g Spiritus + 0,5 g Wasser und 3,0 g konzentrierter Salzsäure gibt mit Phloroglucin eine hellrote Färbung. Das Reagens hält sich etwa 6 bis 8 Tage (LINDT I). 0,000001 g trockenes Phloroglucin soll bei Zutritt eines Reagentropfens noch sofort erkennbar sein. Aber auch diese Reaktion ist nicht eindeutig für Phloroglucin, denn auch Eugenol, Guajacol, Orcin, Pyrogallol, Resorcin, Safrol, Thymol und noch andere Körper zeigen dieselbe, wenn auch in etwas anderen Tönen (HARTWICH und WINCKEL I).

3. Nach WIESNER (I) färben sich verholzte Gewebe mit einer Phloroglucinlösung (etwa 1%) nach Zusatz von konzentrierter Salzsäure rotviolett. Er prüfte auch Pyrogallussäure, Resorcin und Brenzkatechin auf ihr Verhalten zu verholzten Geweben. Pyrogallussäure gibt die Reaktion nicht und Lösungen von Brenzkatechin oder Resorcin färben Holz bzw. Holzstoff nach Zuführung von Salzsäure blau mit einem Stich ins Violette.

4. Eine Lösung von p-Dimethylaminobenzaldehyd in Schwefelsäure wurde von JOACHIMOWITZ (I) als ein vortreffliches, die LINDTSche Vanillin-Salzsäureprobe an Empfindlichkeit übertreffendes Reagens erkannt. Am geeignetsten erwies sich die Zusammensetzung: 0,5 g p-Dimethylaminobenzaldehyd gelöst in 8,5 g konz. Schwefelsäure und 8,5 g Wasser.

Wird zu einem Körnchen Phloroglucin ein Tropfen dieser Lösung hinzugefügt, so färbt es sich sogleich intensiv rot. So verhält sich nicht bloß freies Phloroglucin, sondern auch seine Derivate (wenn auch nicht alle), besonders schön die als Inklusion häufig vorkommenden Phloroglykotannoide. So wie Phloroglucin verhält sich aber auch Katechin, die geschilderte Reaktion ist also nicht eindeutig.

Andere Phloroglucinreaktionen, die in der Literatur angegeben werden, kommen nach meinen Erfahrungen für den Mikrochemiker nicht in Betracht.

Mit Hilfe der WESELSKYSchen Reaktion versuchte v. WEINZLER, Phloroglucin makro- und mikrochemisch in vielen phanerogamen Pflanzenfamilien nachzuweisen und er gelangt zu dem Resultate, daß dieser Körper sehr verbreitet sein dürfte und besonders im Phellogen der Rinde seinen Sitz hat.

Wenn es sich um den Nachweis kleiner Mengen handelt, hält LINDT die WESELSKYSche Reaktion für nicht befriedigend, da sie sich zu langsam einstellt und das Phloroglucin sich während der Reaktionszeit über den ganzen Schnitt verteilt, so daß über den ursprünglichen Sitz des Phloroglucins nichts ausgesagt werden kann. Er empfiehlt daher anstatt der Reaktion von WESELSKY die mit Vanillin-Salzsäure. Diese tritt sehr rasch ein, nur muß man dafür sorgen, daß die Schnitte abgetrocknet zur Verwendung kommen, da Wasser den Eintritt der Reaktion verzögert und deren Intensität schwächt. Da sich auch Orcin und Resorcin ähnlich verhalten — Phloroglucin färbt sich hellrot, Orcin und Resorcin violettrot — so ist eine Unterscheidung unter gewöhnlichen Umständen nicht möglich. Wendet man aber das Vanillin in sehr verdünnter Lösung, im Verhältnis von 1:1000 an, so tritt nach

LINDT eine Farbenreaktion nur noch bei Phloroglucin und Orcin ein, nicht aber bei Resorcin. Phloroglucin löst sich in dem Reagens hellrot, später etwas violettrot werdend, Orcin hingegen hellblau, mit einem Stich ins Rote. Nach dem Gesagten ist die Probe mit Vanillinsalzsäure für Phloroglucin nicht eindeutig, man wird daher in positiven Fällen nur auf Phenole schließen dürfen.

Eine der besten Reaktionen ist die von WIESNER, unter 3 angeführte. In historischer Beziehung sei darüber folgendes bemerkt. v. HÖHNEL (I) zeigte, daß ein wässriger oder weingeistiger, aus Kirschholz bereiteter Extrakt mit einem verholzten Gewebe und Salzsäure zusammengebracht, das Gewebe rotviolett färbt. Er nannte den fraglichen, im Kirschholzextrakt befindlichen Körper, der die violette Farbe bedingte, Xylophilin. WIESNER hat dann die wichtige Tatsache festgestellt, daß Xylophilin mit Phloroglucin identisch ist und daß das Phloroglucin dieselbe Reaktion wie das Xylophilin gibt. Man kann daher nach WIESNER verholzte Gewebe, oder genauer gesagt, den Holzstoff (Lignin) bei Anwendung von Salzsäure als höchst empfindliches Reagens auf Phloroglucin betrachten, vorausgesetzt, daß Resorcin und Brenzkatechin nicht vorhanden sind, da sie ähnliche Reaktionen geben.

Zahlreiche verholzte Gewebe färben sich auf Zusatz von Salzsäure allein rotviolett, dies geht schon aus älteren Beobachtungen von WIGAND (I) und anderen Forschern, namentlich aber aus zahlreichen Untersuchungen v. HÖHNELS hervor. Der letztere konnte, als er daraufhin 281 Pflanzenarten untersuchte, bei 143 Xylophilin nachweisen. WIGAND nannte den die rotviolette Färbung hervorrufoenden Stoff Cyaneogen, v. HÖHNEL Xylophilin, und WIESNER erkannte, wie bereits bemerkt, das Phloroglucin als den im Xylophilinextrakte wirksamen Bestandteil. Die Rotviolettfärbung mit Salzsäure allem tritt z. B. ein in den verholzten Geweben von Coniferen, Aroiden, Cupuliferen, Morenen, Hippocastaneen, Ampelideen, Euphorbiaceen, Oenothereen, Polygoneen, Acerineen, besonders aber bei Pomaceen, Amygdaleen, Myrtaceen, Melastomaceen und anderen. Daraus darf auf die weite Verbreitung des Phloroglucins (oder verwandter Phenole) geschlossen werden, doch sagt die mikrochemische Untersuchung nichts darüber aus, ob das Phloroglucin frei vorliegt oder in glykosidischer oder anderer Bindung, da durch Salzsäure, z. B. aus den Phlorogluciden leicht Phloroglucin abgespalten wird.

WAAGE (I) hat mit der Vanillinsalzsäure-Reaktion auch zahlreiche Pflanzen mikrochemisch untersucht und kommt gleichfalls zu dem Resultate, daß Phloroglucin ein weit verbreiteter Körper ist. Von 185 genauer untersuchten Pflanzen enthielten nach WAAGE 135 Phloroglucin, und zwar 51 reichlich, 41 mittel, 43 wenig und 50 keines. Dies entspricht 73 bzw. 27%. Gehölze enthalten gewöhnlich häufiger Phloroglucin als Kräuter. WAAGE fand es gewöhnlich im Zellinhalt. Es kann auftreten in der Oberhaut, im Phellogen, Rindenparenchym, Sklerenchym, Phloemparenchym, Kambium, Mark und anderen Geweben.

Die umfassendsten Untersuchungen über die Verbreitung des Phloroglucins und seiner Abkömmlinge stellte JOACHIMOWITZ (I) mit ihrem Reagens an. Sie untersuchte 464 Pflanzen aus allen Pflanzenstämmen und dabei ergab sich die interessante Tatsache, daß die Algen, Pilze und Flechten niemals Phloroglucin führen und daß dieser Körper ebenso

wie das Lignin erst bei den Pteridophyten (Farnen) auftaucht. Besonders reich an Phloroglucin sind z. B. die Theaceae, Geraniaceae, Crassulaceae, Rosaceae, Leguminosae u. a.

Hier sei noch der sogenannten Phloroglykotannoide gedacht, die als glykosidische Tannoide zu betrachten sind, in denen der Zucker durch Phloroglucin ersetzt erscheint. Sie sind in den verschiedensten Organen weit verbreitet und geben so wie Gerbstoffe Veranlassung zur Bildung von Phlobaphenen. Als solche Phloroglykotannoide sind nach HARTWIG und WINKER, die von TICHOMIROW (I) als Inkluden bezeichneten Inhaltskörper der Zellen mancher Früchte aufzufassen. Sie finden sich in den Früchten von *Ceratonia Siliqua*, *Rhamnus cathartica* (FRÜCKTER I), *Phoenix dactylifera* (BRAUN I, HANAUSEK I), *Rhamnus*, *Sorbus*-Arten, *Mespilus germanica* (HANAUSEK II), in der Samenschale des Piments (SCHIMMER I), *Diospyros*- und *Anona*-Arten (TICHOMIROW II), *Chimaphila*, *Pirola chlorantha*, *Vaccinium oxycoccos*, *Apocynum venetum* (NETOLITZKY I), Tamarinden und anderen. Seit langem bekannt sind die Inkluden von *Ceratonia*. Sie bilden große rötlichbraune, eigentümlich gerunzelte Klumpen in vielen Zellen des Fruchtfleisches. Sie sind in Wasser, Alkohol, verdünnter Schwefelsäure und Essigsäure unlöslich und färben sich mit verdünnter Kalilauge zunächst grün, dann graublau, beim Erwärmen violett. Mit starker Kalilauge werden sie dunkelblau, mit Vanillinsalzsäure rot. Die Inkluden der verschiedenen Pflanzen geben z. B. mit Eisensalzen nicht immer übereinstimmende Reaktionen, sie werden auch nicht immer identisch sein, gegenüber Kalilauge, Vanillinsalzsäure und p-Dimethylaminobenzaldehyd verhalten sie sich aber so ziemlich übereinstimmend. Die Blattgelenke der *Mimosa pudica*, anderer *Mimosa*-Arten und der Oxalideen zeichnen sich durch das Vorkommen zahlreicher großer Gerbstoffvakuolen aus. Wie MORISCH (V) gezeigt und JOACHIMOWITZ (I) bestätigt hat, stellen diese mit den sogenannten Inkluden anderer Pflanzen chemisch nah verwandte Gebilde dar, insofern beide aus Phloroglykotannoiden bestehen, denen sich auch Katechinderivate zugesellen können.

#### Asaron, $C_{12}H_{16}O_3$ .

Asaron wird von konzentrierter Schwefelsäure rotorange gelöst. Es findet sich hauptsächlich im Rhizom und in der Wurzel von *Asarum europaeum* vor. Der Querschnitt durch das frische, an der Oberfläche des Bodens kriechende Rhizom zeigt in der Epidermis, dem peripheren Grundgewebe und dem Marke zahlreiche parenchymatische Zellen, die entweder ganz von einem einzigen oder zwei bis mehreren Tropfen einer fast farblosen, stark lichtbrechenden öligen Substanz erfüllt sind. Wird ein Tropfen konzentrierter Schwefelsäure zu dem Schnitte zugesetzt, so färben sich die öligen Tropfen zuerst gelblich, dann rein gelb und zuletzt orange (BORŠČOW I). So gibt es BORŠČOW an, ich aber finde, daß sich der Inhalt der Asaronzellen allerdings so färbt, zuletzt aber blut-, granat- oder braunrot.

Das Asaron ist wahrscheinlich in den erwähnten Zellen in einem ätherischen Öl gelöst. In reinem Zustande stellt es farblose, monokline Kristalle dar, unlöslich im kalten Wasser, leicht löslich in Alkohol, Äther, Chloroform oder Eisessig.

Neben den Asaronzellen finden sich noch andere Sokrotzellen im Wurzelstocke, die sich durch ihren dicklichen, ziemlich homogenen, schön weinroten oder hellbräunlichen Inhalt auszeichnen. Der darin enthaltene rote Farbstoff verhält sich nicht wie echtes Anthokyan, denn er färbt sich mit verdünnter Kalilauge schmutzig gelbbraun. Sie ähneln Inklusionen und werden am besten zur Anschauung gebracht, wenn man sie auf einem Tangentialschnitt durch das subepidermale Kollenchym betrachtet. Sie erscheinen dann als mehr oder minder gestreckte, meist rot gefärbte Zellen. Ähnliche Sokrotzellen finden sich auch an der äußeren Peripherie der Leitbündel und vereinzelt auch im Mark. In der Nähe der Gefäßbündel oft so reichlich, daß sie auf dem frischen Schnitte schon dem freien Auge als ein dunkler Kreis kenntlich werden.

#### Vorkommen.

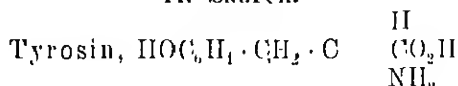
Abgesehen von *Asarum europaeum* wurde Asaron auch im Kalmusöl (*Acorus Calamus*), im Maticoöl (*Piper angustifolium*) und im Blatt- und Wurzelöl von *Asarum arifolium* gefunden.

#### Sphagnol.

Die Zellhäute vieler Moose (*Marchantia polymorpha*, *Sphagnum*, *Fontinalis antipyretica* u. a.) geben die MILLONsche Probe mit kirschrotem Farbenton. Die Ursache dieser Färbung scheint ein phenolartiger Körper zu sein, den CZAPPEK (I, 365) aus *Sphagnum acutifolium* einigermaßen rein dargestellt und Sphagnol genannt hat.

Das in Kristalldrusen gewonnene Sphagnol ist in Wasser und Alkohol leicht löslich, unlöslich in Äther, leicht löslich in Alkalien und durch Säuren daraus wieder fällbar. Mit MILLONschem Reagens färbt es sich kirschrot. In der intakten Zellmembran dürfte das Sphagnol chemisch gebunden sein und möglicherweise als Sphagnolzelluloseäther vorliegen. Es ist stark giftig und dient vielleicht als Schutzstoff.

#### II. Säuren.



I. BORODIN (I u. II) hat in derselben Weise, wie er dies für Asparagin getan hat, auch Tyrosin nachgewiesen. Er legte die Schnitte in Alkohol, bedeckte mit einem Deckglas und ließ den Alkohol verdampfen. Auf diese Weise erhielt er am Deckglasiende z. B. mit den jungen etiolierten Blättern von *Solanum tuberosum* neben Asparaginkristallen kleine nadelförmige, teils einzelnliegende, teils zu pinselförmigen Büscheln vereinigte Kristalle, die in einer warmgesättigten Tyrosinlösung unverändert blieben und sich auch sonst als Tyrosin erwiesen.

Die Tyrosinkristalle (Fig. 53) lösen sich schwer in kaltem (ein Teil löst sich in 2-191 Teilen von 17°), leichter in heißem Wasser. Sie sind unlöslich in Aceton, Äther und absolutem Alkohol, ziemlich leicht löslich in Ammoniak, Alkalien und Alkalikarbonaten, leicht löslich in verdünnten Mineralsäuren und schwer löslich in Essigsäure. Wenn BORODIN die Tyrosinnatur der Kristalle in gesättigter Tyrosinlösung prüft, so wird wohl zu beachten sein, daß die Tyrosinkristalle an und für sich in kaltem Wasser schwer löslich sind und es ist fraglich, ob in diesem Falle die BORODIN'sche Methode zu sicheren Schlüssen führt.

2. Aceton. Nach meinen Erfahrungen leistet Aceton bessere Dienste als Alkohol. Die Tyrosinkristalle scheiden sich in Aceton viel rascher und viel reichlicher ab.

3. Tyrosinkristalle färben sich namentlich bei gelindem Erwärmen mit MILLONS Reagens rot.

4. LEITGER (I, 229) fand, daß beim Zusetzen von Salpetersäure zu Tyrosin und nachherigem, vorsichtigem Verdampfen ein gelb gefärbter Rückstand übrig bleibt. Setzt man dann Natronlauge hinzu, so färbt sich die Flüssigkeit rotgelb und beim Verdunsten derselben erscheinen kristallinsche, rotbraun gefärbte Ausscheidungen. LEITGER spricht sich über diese Ausscheidungen nicht weiter aus; ich möchte daher betonen, daß die entstehenden Kristalle in Farbe und Form sehr charakteristisch sind und daß sie zur Erkennung von Tyrosin, wenn es sich in größerer Menge vorfindet, sehr gute Dienste leisten können. Es sind entweder Nadeln, Prismen mit abgerundeten Enden, oder es sind stern- oder sphäritartige Aggregate von braunroter Farbe oder Aggregate, bestehend aus spießigen oder messerartigen Formen von prachtvoll chromgelber oder karotinartiger Farbe. Leider habe ich diese Kristallformen nur mit reinem Tyrosin, aber nie im Gewebe erhalten.

#### Vorkommen.

Tyrosin findet sich als wichtiges Abbauprodukt der Eiweißkörper nicht gerade selten vor, aber gewöhnlich nicht in größerer Menge. BORODIN (I, 816) fand diesen Körper nebst Asparagin in unentwickelten Blättern eines etiolierten Kartoffelsprosses, später in eben solchen Sprossen, die, abgeschnitten ins Wasser gestellt, einige Zeit verdunkelt wurden und in etiolierten Sprossen verschiedener Papilionaceen. Ausnahmungsweise traf er diese Aminosäure in Blättern junger normaler Exemplare von *Dahlia variabilis* in so großen Mengen vor, daß er nach Anwendung von Alkohol ganze „Gebüsche der haarförmigen, oft dendritisch gruppierten Kristalle“ erhielt. Später konnte BORODIN diesen Körper bei anderen Varietäten derselben Art nicht auffinden. LEITGER fand Tyrosin häufig in den Knollen von *Dahlia variabilis*, doch scheidet sich das Tyrosin oft nur unter ganz besonderen Bedingungen ab, da es in Schnitten wahrscheinlich wegen seiner geringen Menge und infolge ungünstiger Kristallisationsbedingungen in Kristallform nicht erscheint. Schafft man jedoch Verhältnisse, unter denen der Körper nach einzelnen Kristallisationspunkten zuströmt, so kommt er dann zur Ausscheidung. Um dies zu erreichen, wird nach LEITGER (I, 228) eine durch einen Querschnitt gewonnene Knollenhälfte aufrecht in ein der Knolle angepaßtes Gefäß gestellt und dieses so weit mit Alkohol gefüllt, daß wenigstens ein Drittel der Knolle mit dem Querschnitt über den Alkohol emporragt. Meist schon nach 2 Tagen tritt neben ihm das Tyrosin so reichlich auf, daß man es auch makroskopisch wahrnehmen kann.

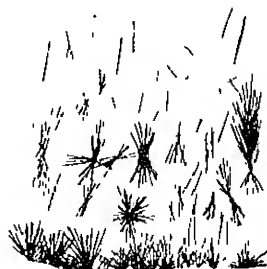


Fig. 53

Tyrosinkristalle aus  
einer wässrigen Lösung  
Vergr. 80

Ferner wurde Tyrosin nachgewiesen in Keimpflanzen von *Vicia sativa*, *Lupinus luteus* und *albus*, *Tropaeolum majus*, ferner in der Steckrübe (*Brassica Rapa*), in den Knollen von *Stachys tuberosa*, in der Sellerie (*Apium graveolens*), in unreifen Samen von *Phaseolus vulgaris*, *Pisum sativum*, in der grünen Hülse der Bohne und im Zuckerertrübensaft (ABDERHALDEN).

Schon aus den Befunden von BORODIN und LEITGER geht hervor, daß bei Dahliasprossen Tyrosin bald auftritt, bald nicht, und Ähnliches wurde auch bei Keimlingen konstatiert. So konnte weder SCHULZE (I) noch WASSILIEFF (I) aus *Lupinus albus* Tyrosin darstellen, während es BERTEL (I) bei Sauerstoffentzug oder Narkose angeblich reichlich fand. Das wechselnde Auftreten dieser Aminosäure scheint demnach mit ganz bestimmten Ursachen zusammen zu hängen. Das massenhafte Auftreten von Tyrosin in der Wurzel der Lupine, wie es BERTEL unter den er-

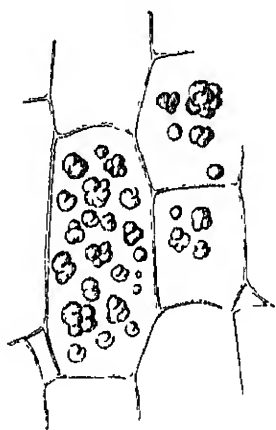


Fig. 54

Tyrosin(?)warzen im Wurzelparenchym eines 5 Tage alten, etiolierten Keimlings von *Lupinus* sp. nach  $\frac{1}{2}$  stündigem Aufenthalt im Chloroformdampf Vergr. 180.

wähnten Bedingungen beobachtet hat, ist jedenfalls bemerkenswert und sollte weiter verfolgt werden. Wenn 2—3 Tage alte Lupinenkeimlinge (*L. albus*) mittels einer Wasserstrahlpumpe unter Wasser injiziert wurden, so schieden sich stets in der Wurzel und im Hypokotyl zahlreiche gelblichweiße, bis 10  $\mu$  große Tyrosinsphärite ab (Fig. 54). Dasselbe wurde nach der Einwirkung gewisser Narkotika (Chloroformdampf, Chloroformwasser, Benzol, Toluol, Alkohol, Äther) und Natriumbisulfit (5%) schon nach 2—3 Stunden erzielt. Die Sphärite schieden sich im Gewebe vom Hypokotyl bis in die Wachstumszone der Wurzel ab, dann erleidet die Abscheidung eine Unterbrechung und tritt in der Wurzelspitze wieder auf. Auch in der Plumula erscheinen die Sphärite, hingegen nicht in der Wurzelhaube. BERTEL ist der Meinung, daß die Tyrosinbildung noch in der lebenden Zelle einsetzt, daß durch die Narkose die Tätigkeit des proteolytischen Enzyms, welches Tyrosin aus dem Eiweiß abspaltet,

nicht unterbrochen wird und daß das Tyrosin, da es in der Narkose nicht weiter verwendet wird, angehäuft werden muß. Nach 24 Stunden stellt sich wieder eine Abnahme und nach etwa 3—4 Tagen ein völliges Verschwinden der Sphärite ein, weil es nach BERTEL durch ein Enzym weiter verarbeitet werden soll.

Auffallend ist, daß bei anderen Keimlingen die Tyrosinanhäufung nicht erzielt werden konnte und es bedarf weiterer Untersuchungen darüber, ob speziell bei *Lupinus* nicht durch die Narkose eine abnorme Steigerung der Tyrosinbildung eingeleitet wird.

Über das rasche und massenhafte Erscheinen der Sphärite während der Narkose kann kein Zweifel sein. Ich erhielt die Sphärite bei Wurzeln von 2—3 cm Länge schon nach 10 Minuten, allein ich konnte mich doch eines gewissen Zweifels nicht erwehren, daß in den Sphäriten der BERTELSchen Versuche wirklich Tyrosin vorliegt,

da ja Tyrosin gewöhnlich nicht in Sphäriten, sondern in Nadeln, Garben und Büscheln kristallisiert (Fig. 54). Auch kann man die Sphärite selbst mit MILLON'schem Reagens nicht rot färben, weil sie sich darin sofort lösen, und aus einer nachträglichen Rotfärbung der Lösung darf man nicht ohne weiteres schließen, daß die Rotfärbung von den Sphäriten selbst herrührt.

BERTHEL spricht stets von Sphäriten, ihr Aussehen erinnert aber häufig mehr an Warzen mit höckeriger Oberfläche. In polarisiertem Lichte leuchten sie auf und zeigen ein dunkles Kreuz.

Mit MILLON's Reagens werden alle unverholzten, nicht allzu jungen Zellwände der Bromeliaceen rot. Diese Tatsache wurde von einigen Forschern auf Eiweiß (WIESNER, KRASSER), von anderer Seite (A. FISCHER, CORRENS und SAITO) auf Tyrosin zurückgeführt. Vielleicht ist diese Reaktion durch keinen dieser Stoffe bedingt, sondern durch einen noch unbekannten Körper.

Ferulasäure, Kaffeesäuremonomethyläther.

Wurde in *Asa foetida*, im Überwallungsharz von *Pinus Laricio* und im Umbelliferen-*Opoponax* aufgefunden.

Nachweis.

TUNMANN (II) gelang zuerst die Mikrosublimation aus *Asa foetida*. Bei Verwendung von 0,05 g erhält man ein weißes Sublimationsfeld, das je nach der angewandten Harzmenge und der Temperatur aus kleinen Körnchen, Prismen, Rosetten, Dendriten oder stumpfen Prismen besteht, an deren Enden sich kleinere Kristalle pinsel- oder strauchartig ansetzen (Fig. 55).

Eigenschaften der Kristalle Farblos, in heißem Wasser, Alkohol, Äther löslich, in Schwefelsäure mit gelber Farbe. Mit einem Tropfen Kaliumpermanganatlösung erwärmt, entwickelt sich starker Vanillingeruch. Mit Phloroglucinsalzsäure werden die Kristalle sogleich tiefrot gelöst. TUNMANN (V) untersuchte *Kemppflänzchen* von *Ferula Narthex* Boiss., und konnte die Ferulasäure durch diese Rotfärbung nur in den Milchsaftgängen feststellen.

Benzoesäure,  $C_7H_6O_2$ .

Vorkommen

In der Frucht der Preiselbeere (*Vaccinium Vitis idaea* L.) und der Moosbeere (*Vaccinium Oxycoccus* L.), in den Blättern von *Pinguicula vulgaris*, im Sekrete von *Utricularia*, im Benzoeharz, Peru-, Tolu balsam, ätherischen Ölen usw. (DOHRN und THIELE I, 1185). Sie kommt entweder frei (Preiselbeere) oder als Ester mit Benzyl-, Äthyl- und Zimtalkohol vor (verschiedene Harze).



Fig 55

Ferulasäure-Kristalle, gewonnen durch Mikrosublimation aus *Asa foetida*. Vergr. 250



**Eigenschaften.** Dünne rektanguläre oder quadratische Tafelchen, lange rechtwinkelige Prismen oder federartige Aggregate (Fig. 56). Monoklin. Schwer löslich im Wasser, sehr leicht in Äther, Chloroform, Benzol und Alkohol. Aus Chloroform erhält man Ranken, aus Benzol moosähnliche Häufchen von Blättchen und Nadeln, aus heißem Wasser Rauten oder rechtwinkelige Blättchen. Schmelzpunkt  $121^{\circ}$ , sublimiert leicht. Die Benzoesäure wird aus der wässrigen Lösung ihrer Salze durch Säuren leicht ausgeschieden.

### Nachweis.

1. Sublimation. Zum mikrochemischen Nachweis bediente sich NESTLER (I) mit Vorteil der Mikrosublimation. Man erhält aus einer einzigen zerkleinerten Frucht der Preiselbeere einen starken Beschlag von Benzoesäurekristallen (Fig. 56). Sie lösen sich leicht in Natronlauge ( $\frac{n}{10}$ ). Fügt man zu dieser Lösung etwas Salz-, Salpeter- oder Essigsäure, so scheidet sich die Benzoesäure vorherrschend in Dendriten und außerdem langgestreckten Kristallfedern aus, die aus vielen,

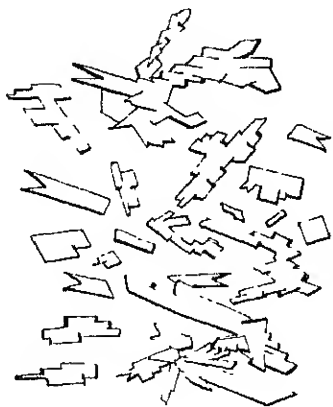


Fig. 56.

Benzoesäure-Kristalle  
durch Sublimation aus den Fruch-  
ten der Preiselbeere (*Vaccinium*  
*Vitis idaea* L.) gewonnen  
Vergr. 120

annähernd in gleicher Richtung aneinander gereihten rechtwinkeligen Lamellen bestehen (HAUSHOFER I). Die von NESTLER eingeführte Mikrosublimation der Benzoesäure ist auch für die Praxis wichtig, weil sie sicher ist und schon mit kleinen Quantitäten von Stoffen (Marmelade, Fett usw.) gelingt.

2. Silberbenzoat (HAUSHOFER I, 72, BEHRENS I, 72). Lösungen von freier Benzoesäure geben mit Silbernitrat keinen Niederschlag. Auf Zusatz von Natriumacetat entstehen Häufchen und Büschel kurzer Nadeln, mit bräunlicher Farbe durchscheinend.

Wird Silbernitrat mit einer Lösung von Ammoniumbenzoat oder schwach ammoniakalische Silberlösung mit freier Benzoesäure zusammengebracht, so bildet sich ein weißer Niederschlag, und bald darauf entstehen Büschel von sehr dünnen, langen, schwach polarisierenden

Blättchen ( $800-1000 \mu$ ). Blättern von Gräsern ähnlich. In Ammoniak verschwinden sie sogleich, treibt man das Ammoniak unter Ersatz des Wassers aus, so erscheinen die Kristalle in gekrümmten, arabeskenartigen Fäden. Verdünnte Lösungen eines benzoesauren Salzes geben mit Silbernitrat alsbald einen Kristallniederschlag: zunächst ein wirres, wolliges Haufwerk schmalen, sehr dünner, oft gekrümmter Lamellen. An ihren freien Enden tritt häufig ein spitzer Winkel von etwa  $40-50^{\circ}$  auf. Sie löschen parallel ihrer Längsachse aus, polarisieren aber nur mäßig. Später tauchen kleine Rauten auf, deren Auslöschungsrichtungen diagonal liegen. — Obwohl es nicht möglich ist, die Benzoesäure direkt in der Zelle nachzuweisen, so konnte sich doch NESTLER mit Hilfe der Sublimationsmethode überzeugen, daß die Benzoesäure in der Frucht der Preiselbeere sowohl an der Außenseite der Epidermis als auch im

Innern der Oberhautzellen, im Fruchtfleische und in den Samen vorkommt, also die ganze Frucht durchdringt.

Betuloretinsäure,  $C_{30}H_{46}O_5$ .

Die jungen, sich eben entwickelnden Triebe von *Betula alba* und anderen Arten, insbesondere von *Betula pubescens* sind an den Achsen, Blattstielen und Blattspreiten mit kleinen Wärzchen versehen, die mit einem oft weißlichen, klebrig-harzigen Überzuge bedeckt erscheinen. Die Wärzchen stellen, wie MIKOSCH (I) gezeigt hat, echte Trichome dar, die schon in der Knospe zu beobachten sind. Sie fungieren als Drüsen und scheiden eine blaßgelbliche, sirupdicke Masse aus, aus der sich nach der Entwicklung des Blattes die Betuloretinsäure in fester amorpher Form absondert.

Diese Harzsäure schmilzt bei  $94^{\circ}$ ; ist unlöslich in Wasser, leicht löslich in Alkohol, Äther, Ammoniak und wässerigen Alkalien. Mit konzentrierter Schwefelsäure gibt sie eine rote Lösung (KOSMANN I). Schnitte durch junge Blätter färben sich mit Schwefelsäure zuerst gelbbraun, schließlich rot, rotviolett oder ziegelrot. Irgendwelche charakteristische, mikrochemisch verwertbare Reaktionen sind nicht bekannt.

Zimtsäure,  $C_6H_5 \cdot CH : CHCO_2H$ ,

kommt vor teils frei, teils als Ester in flüssigem Storax, Tolubalsam, Perubalsam, Guttaperchaharz, in der Aloe, im gelben Xanthorrhoeaharz, im Cassiabl, in den Blättern und Stengeln von *Globularia alypum*, in *G. vulgaris*, in den Blättern von *Cinnamomum* und *Myrspermum* (DOHRN u. THIRLE I, 1230).

Nachweis.

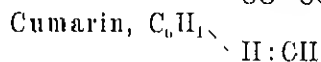
WIESNER (III, 178) hat bereits im Jahre 1869 aus dem Storax Zimtsäure unterm Deckglas sublimiert. Genauere Daten über die Mikrosublimation der Zimtsäure verdanken wir TUNMANN (VI). Von reiner Zimtsäure gewinnt man leicht schon kristallisierte Sublimat. Nadeln, Blättchen, einzeln oder miteinander verwachsen, zuweilen an Asparaginkristalle erinnernd. Dieselben oder ähnliche Kristalle lassen sich aus Balsam von Liquidambar, von *Myroxylon toluifera* und *M. balsamum* gewinnen. Da in den Harzen neben der Zimtsäure häufig auch Benzoesäure vorkommt, so erscheint die letztere auch im Sublimat und man muß sich daher vor Verwechslung hüten. Die Unterscheidung der beiden Säuren ist leicht. Die Benzoesäure erscheint in den Sublimaten zuerst, die Zimtsäure später. Die Zimtsäure löst sich in Wasser, die Benzoesäure auch, aber viel langsamer. Die Kristalle der Zimtsäure und ihrer Ester leuchten bei gekreuzten Nicols prächtig in allen Farben auf und besitzen schiefe Auslöschung. Die Kristalle der Benzoesäure erscheinen unter denselben Verhältnissen nur grau, löschen nicht vollständig aus und zeigen keine gute Ausbildung, so daß man bei gewöhnlicher Beleuchtung stark abblenden muß, um ihre Formen zu erkennen. Die Benzoesäure verflüchtigt sich aus dem Sublimat nach einigen Tagen vollständig.

Setzt man zu dem Sublimat Silbernitrat hinzu, so werden die Kristalle der Zimtsäure und ihrer Ester unansehnlich, zum Teil braun, leuchten im polarisierten Licht nicht mehr so prächtig, sondern nur

grau auf und gehen größtenteils in Lösung. Die Kristalle der Benzoesäure lösen sich zwar auch auf, erscheinen aber bald in besser ausgebildeten, lebhaft polarisierenden Kristallen von benzoesaurem Silber.

Unter dem Einfluß von Bromdämpfen zerfließen die Kristalle der Zimtsäure zu braungelben Tropfen, die der Benzoesäure lösen sich zum Teil und bleiben farblos. Fügt man, nachdem der Bromdampf etwa eine halbe Stunde auf die Zimtsäure gewirkt hat, eine Spur Schwefelkohlenstoff hinzu, bedeckt mit einem Deckglas und läßt einige Zeit liegen, so kristallisiert die Zimtsäure in büschelartig angeordneten Blättern als Dibromzimtsäure, zumeist senkrecht auf dem Objektträger stehend, aus. Es wird auch zu prüfen sein, ob sich auch die Ester der Zimtsäure in den Sublimaten befinden. TUNMANN konnte die Zimtsäure nicht bloß aus Harzen, sondern auch aus künstlichen Gemischen, wie Zinkperubalsamsalbe, Zimtsäurezuckersirup, Zimtsäurekreosotpillen, Zimtsäurekognak und Zimtsäureöl sublimieren.

Bedenkt man, daß aus Harzen bereits zahlreiche Körper sublimiert werden konnten: Benzoe-, Zimt-, Ferula-, Protokatechusäure, Brenzkatechin, Umbelliferon u. a., so ist ersichtlich, daß die Mikrochemie auch bei der Untersuchung der Harze die Makrochemie wesentlich unterstützen kann. Die in den Harzen vorkommende Zimt- und Benzoesäure wirken antiseptisch und es ist daher anzunehmen, daß sie auch im Wundbalsam der Pflanze diese Aufgabe zu erfüllen haben.



Die Cumarinsäure ist in freiem Zustande unbekannt. Wird sie aus ihren Salzen frei gemacht, so verliert sie sofort ein Molekül Wasser und geht in Cumarin über.

#### Vorkommen.

Cumarin ist ziemlich verbreitet. Im Waldmeister, *Asperula odorata*, im Steinklee, *Melilotus officinalis*, im Ruchgras, *Anthoxanthum odoratum*, in *Hierochloa australis*, *H. borealis*, in den Farnblättern, *Angraceum fragrans*, in *Nigritella alpina*, *Liatris odoratissima*, *Hemiaria glabra*, *Ageratum mexicanum*, in der Tonkabohne, *Dipteryx odorata*, in der Rinde von *Prunus Mahaleb* u. a. In welcher Form das Cumarin in der lebenden Zelle auftritt, ist vielfach noch unbekannt. Im Steinklee soll es an Melilotsäure gebunden sein. In manchen Pflanzen entsteht es, wenigstens der Hauptmasse nach, erst nach dem Absterben (MOLISCH und ZEISER, 1).

Eigenschaften. Farblose, seidenglanzende, rechtwinkelige Blättchen oder vierseitige Säulen. Rhombisch. Geruch nach Waldmeister. Schmelzpunkt 67°. Sublimiert leicht. Gut löslich in heißem Wasser, Alkohol, Äther, fetten und flüchtigen Ölen. Cumarin wird von warmer verdünnter Natronlauge langsam gelöst und aus der Lösung durch Essigsäure in Form von dicken Prismen und langen Spießen unverändert abgeschieden.

Der Nachweis gelingt mikrochemisch nach NESTLER (II) sehr leicht durch Sublimation (Fig. 57). Man halte die Temperatur bei etwa 75°C. Einige kleine Fragmente der Tonkabohne (0,005 g) geben, der Sublimation unterworfen, schon nach 3—5 Minuten zahlreiche Kristalle und Aggregate, meist aus Prismen bestehend, von den er-

wählten Eigenschaften des Cumarins. Andere günstige Versuchsobjekte sind *Ageratum*, *Asperula*, *Hierochloa*, *Anthoxanthum* und *Prunus mahaleb*.

**Reaktion mit Jod.** Jod gibt mit Cumarin eine kristallisierte Verbindung. Ein Tropfen einer heiß gesättigten Cumarinlösung mit Jodtinktur zusammengebracht, trübt sich infolge des Auftretens von überaus kleinen Tröpfchen. Nach einigen Sekunden kommt es zur Bildung von langen, schmutzig violett gefärbten Büscheln von Nadeln. Auch andere, freies Jod enthaltende Lösungen geben diese Reaktion, besonders schön eine Lösung von Chlorzinkjod. Vielleicht handelt es sich hier um eine analoge Verbindung wie bei der bereits bekannten Cumarindibromverbindung,  $C_9H_6O_2Br_2$ , in der nur anstatt Brom Jod addiert ist.

WURTE (I) redet einer Kombination der Sublimation mit der Anwendung einer wässrigen Jodjodkaliumlösung das Wort.

Die Reaktion mit Jod auf Cumarin wurde zuerst von SENFT (I) mikrochemisch verwertet. Schon ein ganz geringer Sublimatanflug genügt zum Gelingen der Reaktion. Besonders schöne und deutliche Reaktion erhält man mit der Tonkabohne. Der auf den Samen vorhandene kristallnische Cumarinbelag und auch das Keimblattgewebe geben mit Chlorzinkjod die beschriebene Probe. Es ist bisher nicht der Beweis geliefert worden, daß das Cumarin schon in der lebenden Tonkabohne vorhanden ist. Es ist möglich, daß es erst postmortal entsteht. Es könnte sich vielleicht mit dem Cumarin ähnlich verhalten, wie bei dem Vanillin der Vanillefrucht, das auch erst nach dem Absterben der Frucht entsteht (vgl. 160). Tatsächlich hat WURTE nachgewiesen, daß in *Asperula odorata*, *Melilotus officinalis* und *Prunus mahaleb* das Cumarin größtenteils in gebundenem Zustande vorhanden ist und daß die cumarinhaltigen Stoffe, die wahrscheinlich als Glykoside anzusprechen sind, durch Emulsion gespalten werden.



Fig. 57

Cumarinkristalle, gewonnen durch Mikrosublimation aus der Tonkabohne, *Dipteryx odorata* Veigl 180.

#### Die Methysteinsäure

läßt sich in der Kawa-Kawa, der Wurzel von *Piper methysticum*, nach TUNMANN (VI) in folgender Weise nachweisen: Etwas Pulver der Droge wird mit 1—2 Tropfen officineller Kalilauge unter Deckglas aufgeköcht und nach dem Abkühlen und dem Verdunsten der halben Flüssigkeit wird verdünnter Alkohol (1:1) zugesetzt. Nach 24 Stunden wachsen aus dem beim Aufkochen in gelber Farbe erscheinenden und nach Zusatz des Alkohols braun gewordenen Tropfen zahlreiche Kristalle heraus: ungemein zarte, sehr lange (bis 1 mm) vielfach hin- und hergebogene Kristallnadeln, die sich von den gleichzeitig erscheinenden Kristallen

leicht unterscheiden lassen. Durch Auswaschen mit Wasser können die letzteren entfernt werden, es bleiben dann die Kristalle der Methysticinsäure allein übrig. Bezüglich des Nachweises von in der Kawawurzel auch vorkommenden Methysticins vgl. man TUNMANN (IV, 180).

### Santonin, $C_{15}H_{15}O_9$ .

#### Vorkommen.

In den noch nicht aufgeblühten Blütenköpfchen (Flores cinnae) einer *Artemisia*, wahrscheinlich der *Artemisia Cina Berg* und anderer Arten. Die Begrenzung der Arten ist nicht sicher. Die Blütenköpfchen heißen auch Wurnsamen.

**Eigenschaften.** Farblose Blättchen, rechtwinkelige Tafeln oder Prismen des rhombischen Systems. Schwer löslich in Wasser, leichter in Alkohol und Äther, sehr leicht in Chloroform. Santonin ist das Laktone der Santoninsäure.

**Mikrochemischer Nachweis.** In den Blütenköpfchen findet man häufig Kristallsplitter. Die best ausgebildeten liegen den Flügeln der Hüllkelchblätter an. Nach den Untersuchungen von HEYL und TUNMANN (I) worden sie bis  $60 \mu$  lang und  $15 \mu$  breit, leuchten bei gekreuzten Nicols nur grau auf und löschen schief aus. Alkoholische Natronlauge gibt zwar mit reinem Santonin eine Rotfärbung, aber diese Reaktion gibt mit der Droge keine befriedigenden Resultate, da die Santoninmengen zu klein sind. Auch die Sublimation mit der Droge führt zu keinem brauchbaren Ergebnisse. HEYL und TUNMANN (I, 249) empfehlen zum Nachweis das eigenartige Verhalten der Kristalle zum Chlorzinkjod: „Die Kristalle werden langsam gelb, erhalten Risse und Sprünge und gehen schließlich in tief-gelbbraune Tröpfchen über.“ Das Santonin entsteht nach TSCHIRCH (III) in den Drüsenhaaren neben dem Ol.

### III. Aldehyde.

Aldehyde sind Körper, die durch Oxydation der primären Alkohole entstehen und durch die Gruppe  $\begin{smallmatrix} \text{O} \\ \parallel \end{smallmatrix}$  ausgezeichnet sind. Nur der Formaldehyd ist gasförmig, alle anderen sind flüssig oder fest und zeichnen sich oft durch einen spezifischen Geruch aus. Sie sind außerordentlich reaktionsfähig, oxydieren und polymerisieren sich leicht.

**Nachweis.** Der mikrochemische Nachweis der Aldehyde direkt in der Pflanze liegt noch sehr im argen, denn die meisten der in der Makrochemie angewandten Reduktions-, Fällungs- und Farbenreaktionen sind für die Pflanze entweder noch nicht ausprobiert oder nicht anwendbar oder nicht eindeutig. Verhältnismäßig gute Dienste leisteten nur das SCHIFF'sche Reagens, die Reaktion von Silbernitrat und in manchen Fällen eine alkoholische Pyrollösung.

1. Das SCHIFF'sche Reagens oder die fuchsin-schwefelige Säure wird bereitet, indem man zu einer 0,025proz. Fuchsinlösung so viel  $\text{SO}_2$  gibt, daß gerade Entfärbung eintritt. Ein Überschuß von  $\text{SO}_2$  ist zu vermeiden, denn je geringer dieser ist, desto empfindlicher ist die Reaktion. Man fugt zu dieser Lösung den zu untersuchenden Körper und verschließt das Reagenzglas. Ein zweites Glas dient zur Kontrolle. Liegt ein Aldehyd vor, so färbt sich die Flüssigkeit violett, die Kontrollprobe jedoch nicht. Leider tritt die Reaktion nicht mit allen Aldehyden ein, so

verhalten sich einzelne Phenolaldehyde, Glyoxal, Sulfaldehyd, Dextrose, Laevulose und p-Nitrophthalaldehyd negativ. Durch manche Oxydationsmittel kann die Reaktion auch ausgelöst werden, vielleicht auch durch manche Ketone.

2. Eine Silberlösung kann gleichfalls in vielen Fällen zum Nachweis von Aldehyden herangezogen werden. Diese geben bei der makrochemischen Reaktion den sogenannten Silberspiegel. **TOLLENS'** Reagens besteht aus 3 g Silbernitrat in 30 cem Ammoniakflüssigkeit (spez. Gew. = 0,923) und 30 cem 10proz. Natronlauge. Man bewahrt die beiden Lösungen gesondert und schützt die Silberlösung vor Licht. Unmittelbar vor dem Gebrauche mischt man die beiden Flüssigkeiten zu gleichen Volumteilen.

Für den Nachweis von Aldehyden im Gewebe taugt das **TOLLENS'sche** Reagens kaum, weil die Natronlauge und das Ammoniak den Zellinhalt, insbesondere den Kern und die Chromatophoren zerstören. Hingegen gab mir eine wässrige 1proz. Lösung von Silbernitrat bessere Resultate, weil der Zellinhalt gestaltlich nicht sehr verändert wird und die reduzierenden Substanzen lokal angezeigt werden. Die Schwärzung des Objektes muß mit großer Reserve gedeutet werden, weil nicht bloß Aldehyde, sondern noch andere Körper die Silberreduktion geben, z. B. manche aromatische Amine, Alkaloide, mehrwertige Phenole usw. Dasselbe gilt mutatis mutandis auch von den anderen genannten Aldehydreaktionen.

3. Pyrollösung. Ich benutze eine 10proz. Lösung in absolutem Alkohol. In diese wird der Schnitt  $\frac{1}{2}$  Minute eingetaucht, aus der Lösung herausgenommen und dann mit konzentrierter Salzsäure behandelt.

**Spezielles.** a) Kutikula. Wenn man frische Schnitte von verschiedenen Pflanzen mit dem **SCHIFF'schen** Reagens behandelt, so färbt sich in einer großen Zahl von Fällen die Kutikula nach **GÉNÉAT DE LAMARLIÈRE** (V) rotviolett, was ich bestätigen kann. Als Übungsheispiel empfehle ich das Blatt von *Petroselinum sativum*, *Fuchsia globosa* und *Campanula* sp. Die Kutikula wird bei diesen Pflanzen scharf und deutlich ausgefärbt. Im Gegensatz hierzu gibt es aber Epidermen, die keine scharf abgesetzte Kutikula aufweisen, sondern deren Kutikula allmählich in Kutikularschichten übergeht, so daß auch der Farbton dementsprechend von außen nach innen an Intensität abnimmt. Endlich fand ich Fälle, wo die Epidermiswand ausgenommen die Schließzellen – sich mit **SCHIFF's** Reagens gar nicht oder fast gar nicht färbt. Das ist z. B. bei der Epidermis der Scheinknolle von *Maxillaria vimbilis* und der Blattoberhaut von *Sarracenia rostratus* der Fall. Daraus geht hervor, daß entweder mit der Kutikulierung das Auftreten von Aldehyden nicht notwendig verbunden sein muß oder daß Aldehyde vorliegen, die durch das **SCHIFF'sche** Reagens nicht angezeigt werden. Dafür, daß in der Kutikula häufig Aldehyde auftreten, spricht auch die Tatsache, daß die Kutikula sich mit Silberosalzen oft bräunt oder schwärzt.

b) Verholzte und andere Membranen. **GÉNÉAT** fand auch, daß die Labriformfasern und die Gefäße mit dem **SCHIFF'schen** Reagens die Violett-färbung geben und ich kann hinzufügen, daß überhaupt jede von mir geprüfte verholzte Zellhaut die Reaktion zeigt. Von vornherein dürfte man geneigt sein, das Lignin für die Reaktion verantwortlich zu machen, um so mehr als ja nach den Untersuchungen von **GRAFE** (I), **CZAPK** (IV) und anderen tatsächlich im Lignin Aldehyde vorhanden sind. Allein **GÉNÉAT** bemerkt, daß die **SCHIFF'sche** Reaktion mit verholzten Zellwänden auch eintritt, wenn man vorher das Lignin durch oxydierende oder reduzierende Mittel zerstört hat. Er schließt daraus, daß der Körper, der in verholzten Membranen die **SCHIFF'sche** Reaktion veranlaßt, eine von dem Lignin verschiedene Substanz ist. Das mag bei den von Lignin befreiten Zellhäuten der Fall sein, es schließt dies aber nicht aus, daß sich in der intakten verholzten Membran die das

Lignin auszeichnenden Aldehyde an dem Zutreffen der SCHIFFSchen Reaktion beteiligen. Dafür, daß in der verholzten Zellhaut Aldehyde vorhanden sind, spricht auch die Tatsache, daß sich diese auch mit Pyrrolsalzsäure rot färben.

Nicht unerwähnt soll bleiben, daß viele nicht verholzte Membranen sich mit SCHIFFSchem Reagens gleichfalls intensiv rot färben. Ein ausgezeichnetes Beispiel sind die Haarschuppen von *Nidularium spectabile*. Weitere Beispiele: Die Hyphen gewisser Flechten, *Sticta pulmonaria* und *Usnea barbata*. Die Scheide der Eisenbakterien, die interkalar wachsenden Stellen von *Oedogonium*, die Wände der Blaualgen *Tolypothrix* und *Rivularia*.

c) Sekretbehälter. Es ist bekannt, daß ätherische Öle sehr häufig Aldehyde enthalten, namentlich die höheren Glieder der Aldehyde der aliphatischen Reihe sind fast ausschließlich in solchen Ölen der Pflanzen gefunden worden. Einige Beispiele seien genannt:



Fig. 58

Schwarzung der Chlorophyllkörner in der Blattoberhaut von *Sambucus nigra* durch Silbernitrat. Auch die der Schließzellen *s*. Die Kerne *n* bleiben farblos. Vergr. etwa 300.

Das Azetaldehyd im Kampher-, Anis-, Kümmel-, Rosmarin-, Pfefferminz- und Schafgarbenöl.

Das n-Butyraldehyd im Cajuput- und Eukalyptusöl. Das Isovalerianaldehyd im Cajuput- und amerikanischen Pfefferminzöl.

Das n-Oktylaldehyd im Zitronenöl, das Nonylaldehyd in diesem und in Rosen-, Mandarinen- und Zimtöl — Auch die Aldehyde der aromatischen Reihe wie Benzaldehyd, p-Cuminaldehyd, Phellandrol, Perilla-, Salizyl-, Anis-, Asaryl-, Hydrozimt-, Zimtaldehyd, feiner Vanillin, Piperonal, Fenchonol, Methylfurfural finden sich in ätherischen Ölen vor.

Mit Rücksicht darauf war es von vornherein sehr wahrscheinlich, daß die Sekretbehälter mit ätherischen Ölen die Aldehydreaktionen häufig geben, wie ich in folgenden Fällen feststellen konnte

*Cinnamomum Reinwardtii*. In den Blättern kommen zweierlei Sekretbehälter vor Öl- und Schleimzellen. Die ersteren geben die SCHIFFSche Reaktion, die letzteren bleiben vollständig farblos.

*Laurus nobilis*. Die Ölzellen der Blätter färben sich mit dem SCHIFFSchen Reagens rot. So verhalten sich auch die Öltropfen der Blätter von *Myrtus communis*.

*Ginkgo biloba*. Im Saft des Fruchtfleisches färben sich große übrige Tropfen rasch mit SCHIFFS Reagens

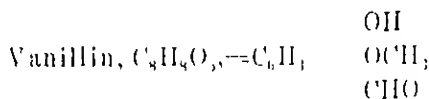
*Dahlia variabilis*. Desgleichen die öligen Tropfen in den Zellen der Wurzelknollen.

d) Chlorophyllkörner. Da nach der BAYERSchen Hypothese als Vorstufe der Kohlehydrate bei der  $\text{CO}_2$ -Assimilation im Chlorophyllkorn Formaldehyd entstehen soll, so hat man zunächst nach Formaldehyd in den grünen Vegetationsorganen gesucht. Obwohl es gelungen ist, sehr verschiedene Aldehyde im Blatte nachzuweisen, steht dennoch ein unbestreitbarer Nachweis von Formaldehyd in der grünen Pflanze bis heute aus. Aber selbst wenn dieser Nachweis im grünen Blatte gellinge, so hätte dieser, wie WILSTÄTTER und STOLL (I, 377) richtig bemerken, keine Bedeutung für die Beurteilung des Assimilationsvorganges. Es wäre dann immer noch zweifel-

haft, wo dieses Formaldehyd entsteht, ob im Chlorophyllkorn oder im übrigen Zellinhalt, da es ja auf verschiedene Weise intra vitam und post mortem entstehen kann.

Daher wäre es ein großer Gewinn, wenn es gelänge, das Aldehyd, sei es das Formaldehyd oder ein anderes direkt im Chlorophyllkorn nachzuweisen. Das ist aber bisher einwandfrei nicht gelungen. Immerhin sollen einige Erfahrungen hier mitgeteilt werden, die nicht ohne Interesse sind und vielleicht anderen Beobachtern von Nutzen sein können.

Was zunächst die Chlorophyllkörner unter der Einwirkung des SCHIFFSchen Reagens anbelangt, so ist zu bemerken, daß sich viele (*Boehmeria utilis*, Aloe-Arten, *Selaginella Martensii* u. a.) rot färben, aber meist erst nach mehreren Stunden oder Tagen. Dies spricht mehr für eine postmortale Entstehung des Aldehyds. Haben doch auch WILLSTÄTTER und STOLL (I, 379) gezeigt, daß zwar nicht der Chlorophyllfarbstoff selbst, wohl aber gewisse seiner Begleiter im Lichte Formaldehyd abspalten lassen. Anders ist es, nach MORISCH (VI), bei der Einwirkung einer 1proz. Lösung von Silbernitrat auf lebende Chlorophyllkörner. Diese haben bei den meisten Gewächsen das Vermögen, Silbersalze, z. B. salpetersaures Silber in einer  $\frac{1}{4}$ –1proz. Lösung geboten, im Lichte wie im Finstern so energisch zu reduzieren, daß sie sich infolge des abgeschiedenen Silbers rasch braun und dann schwarz färben (Fig. 58). Nur das lebende Chlorophyllkorn zeigt die Silberabscheidung, das tote aber nicht. Dies wird zwar von CZAPPEK (III) bestritten, weil seiner Meinung nach mit Bleizuckerlösung behandelte Schnitte doch die Schwärzung der Chromatophoren aufweisen, allein eine Nachprüfung (MORISCH VII) führte mich zu der Überzeugung, daß, wenn die Chlorophyllkörner mit Bleizucker wirklich abgetötet worden sind, sie die Reduktion des Silbersalzes nicht mehr durchzuführen imstande sind. Welcher Körper die Reduktion veranlaßt, läßt sich, da ja viele dafür verantwortlich gemacht werden können, nicht bestimmt sagen. Chlorophyllfarbstoff, Karotin und Xantophyll sind es nicht. Verschiedene Erfahrungen und Erwägungen lenken die Aufmerksamkeit auf die durch ihre heftigen Atombewegungen ausgezeichneten Aldehyde, auf Wasserstoffsuperoxyd und Depside (CZAPPEK III), aber ein Beweis, daß diese Körper die Reduktion besorgen, ist vorläufig nicht erbracht (MORISCH VI, 171).



ist Protokatechualdehyd- $\beta$ -methyläther.

#### Vorkommen

Es findet sich als kristallinischer Überzug in seidenglanzenden Nadeln auf der Oberfläche der (im Handel befindlichen) Früchte von *Vanilla planifolia*. Die unreife Frucht enthält keine merklichen Mengen von Vanillin in freiem Zustande und dementsprechend fehlt ihr auch der Vanillegeruch. Das Vanillin entsteht erst postmortal (MORISCH I, 46, 49; BUSSE I, 102 d Sep.; J. BEHRENS I). Ferner kommt es vor in den Blüten von *Nigritella suaveolens*, *Scorzonera hispanica*, *Spirea Ulmaria*, in verschiedenen Harzen usw., doch ist in einzelnen Fällen noch der Nachweis zu erbringen, ob das Vanillin schon in der lebenden Pflanze vorhanden war.

**Eigenschaften.** Monokline Nadeln vom Geruch und Geschmack der Vanille. Leicht löslich in Alkohol, Äther, Schwefelkohlenstoff und Chloroform, schwer löslich in kaltem Wasser, leichter in heißem. Die wässrige Lösung wird mit Eisenchlorid blau. Vanille gibt nach



SINGER (I) mit den Holzstoffreagentien ganz ähnliche Färbungen wie mit Lignin. Es liefert mit Phloroglucin und Salzsäure eine rotviolette und mit Anilinsulfat eine gelbe Färbung. Vanillinkristalle werden durch Metadiamidobenzol gelb und durch mein Coniferinreagens (vgl. 191) karminrot (MOLISCH I, 48).

#### Nachweis.

Um mikrochemisch Vanillin in der Vanillefrucht nachzuweisen, verfähre ich in folgender Weise (MOLISCH I, 48).

1. Ein Schnitt durch die Vanillefrucht wird mit einem Tröpfchen Orcinlösung (etwa 4%) benetzt und ein großer Tropfen konzentrierter Schwefelsäure hinzugefügt. Der Schnitt wird hierbei momentan intensiv karminrot.

2. Verfährt man ebenso unter Anwendung von Phloroglucin anstatt Orcin, so erhält man mit  $H_2SO_4$  augenblicklich eine ziegelrote Färbung.

Die Reaktion 1 verdient der auffallenden Farbe wegen den Vorzug. Bei beiden Reaktionen ist aber zu beachten, daß, wenn sie beweisend sein sollen, die Färbung momentan und schon in der Kälte eintreten muß; nachträglich erscheinende Färbungen beweisen gar nichts, denn diese könnten auch von Zucker, Gummi und anderen Kohlehydraten herrühren. — Das Vanillin durchtränkt in der käuflichen Frucht alle Zellen, da alle Zellwände (auch die nicht verholzten) und der Inhalt aller Elemente die Rotfärbung bei den angeführten zwei Proben aufweisen.

3. NESTLER (II, 362) konnte auch durch Mikrosublimation Vanillin aus kleinen Stückchen der Vanillefrucht gewinnen und nachweisen

#### Aldehydtropfen

Bei Potamogeton-Arten, besonders bei *P. praelongus* hat LUNDSTRÖM (I) eigentümliche Tropfen beschrieben, die sich in den Epidermiszellen ganz junger Blätter und Nebenblätter noch vor Ausbildung des Chlorophyllapparates vorfinden und in alten Blättern wieder verschwinden. Ihre Bildung soll an kleine, den Leukoplasten ähnliche Gebilde gebunden sein, die er Öoplastiden nannte. Aber LUDFORSS (II), der LUNDSTRÖMS Beobachtungen einer kritischen Nachprüfung unterworfen hat, zeigte, daß die Tropfen kein plasmatisches Stroma besitzen, sondern lediglich Tropfen darstellen, die spezifisch schwerer als der Zellinhalt sind und wahrscheinlich aus einem aromatischen Aldehyd bestehen. Sie reduzieren ammoniakalische Silberlösung, geben mit Phenylhydrazin (2 T. Phenylhydrazin, 2 T. 50proz. Essigsäure, 20 T. Wasser) einen gelben Niederschlag und zeigen die SCHIFFSCHE Reaktion.

#### IV. Chinone.

Juglon,  $C_{10}H_6O_3 = \text{Oxy-}\alpha\text{-naphthochinon}$ .

Stellt gelbrote bis braunrote Nadeln aus Chloroform dar. Diese lösen sich außerordentlich leicht in Chloroform, schwerer in Äther und gar nicht im kalten Wasser. Es färbt die Haut nach und nach braun bis schwarz.

1. Im Kontakt mit wässerigem Ammoniak färbt sich Juglon sofort rotviolett oder purpurn. Durch diese Reaktion wurde der Körper von HERRMANN (I, 27) mikrochemisch nachgewiesen. In der grünen Schale der Walnußfrucht (*Juglans regia*) findet sich viel Juglon. Setzt man frische Schnitte Ammoniakdämpfen aus, so gelingt die Reaktion besonders schön. Die anfangs prächtige Färbung geht allmählich in trübbrot oder braun über.

2. Nickelacetat wurde zum makrochemischen Nachweis und zur Unterscheidung der Oxybenzo-, Oxynaphtho- und Oxyanthrachinone von BRISSEMORET und COMBES (I) verwendet. Man versetzt 10 ccm der alkoholischen Lösung mit 5 ccm einer 5proz. Nickelacetatlösung. Bei Gegenwart eines Oxybenzochinons (Perezon, Embeliasäure) tritt eine blaue Färbung und Fällung, bei Gegenwart eines Oxynaphthochinons (Juglon, Chinon von *Drosera intermedia* und *Dr. rotundifolia*) eine violette Färbung und bei Gegenwart eines Oxyanthrachinons (Chrysophenol, Emodin) eine rosarote Färbung auf.

Nickelacetat konnte ich, namentlich wenn größere Mengen von Juglon, wie in den Nußschalen, vorhanden sind, gut auch mikrochemisch verwerten. Dickere Schnitte nahmen mit einem Tropfen konzentrierter Nickelacetatlösung eine rotviolette Färbung an. Das Gewebe und der Tropfen färben sich diffus. Auch die nach 5 gewonnenen Juglonkristalle zeigen deutlich die Reaktion.

3 Kupferazetat wurde mit Vorteil von TUNMANN (I, 1006) verwendet. Trägt man Schnitte in einen Tropfen einer wässrigen Lösung ein, so bildet sich sofort in der Flüssigkeit und auf dem Schnitt aus dem den aufgeschnittenen Zellen entströmenden  $\alpha$ -Hydrojuglon Juglonkupfer, bestehend aus 5 bis 20  $\mu$  langen Kristallnadeln, die sich zu drusenartigen Bildungen vereinigen und im durchfallenden Lichte fast schwarz erscheinen. In den unaufgeschnittenen Zellen tritt das Juglonkupfer in kugelförmigen Formen auf.

4. Mit Bromwasser erhält man sofort kleine gelbe bis braungelbe Juglonkristalle, die am Rande des Deckglases zu großen Kristallen auswachsen (TUNMANN I, 1009).

5 Auch in Kristallform kann man, wie ich gefunden habe, Juglon leicht nachweisen.

a) Das Juglon kommt in den Parenchymzellen der grünen Nußschale in einer fast gesättigten Lösung vor. Ein frischer Schnitt auf dem Objektträger der Verdunstung ausgesetzt, zeigt an seiner Oberfläche oft schon nach Bruchteilen einer Minute Tausende kleiner gelber Nadelchen.

b) Preßt man aus der grünen Schale einen Safttropfen aus, so bildet sich, sowie die Verdampfung des Tropfens anhebt, ein Kristallbrei von gelben Nadelchen oder Dendriten (Fig. 59 c). Relativ große Juglonkristalle erhält man, wenn man frische Schnitte unterm Deckglas mit Chloroform behandelt. Dieses löst das Juglon und läßt es beim Verdampfen am Deckglasrande anfallen.

c) Juglon konnte ich leicht sublimieren. Ein aus der Nußschale ausgepreßter Safttropfen wird mäßig erwärmt. Das Juglon verflüchtigt sich mit dem Wasser und aus dem kondensierten Wassertröpfchen fällt dann das Juglon meist in mehr oder minder langen gelben, doppelbrechenden Kristallnadeln aus. Bei langsamer Abkühlung auch in

Form von rechtwinkligen Plättchen (Fig. 59 *a*, *b*). Unabhängig von mir hat schon früher TUNMANN (I) den Juglonnachweis durch Mikrosublimation geführt. Alle die gelben, nach *a*, *b*, *c* gewonnenen Kristalle zeigen die Eigenschaften des Juglon. Sie lösen sich in Alkohol, Chloroform, Anilin, langsam in Äther und Petroläther sowie langsam in Schwefelsäure mit tiefröter Farbe. Ammoniak färbt sie violettblau. In konzentrierter Kalilauge lösen sie sich kaum und erscheinen (im durchfallenden Lichte) fast schwarz. Verdünnte Kalilauge löst sie sofort mit rötlicher Farbe (TUNMANN I, 1008).

Indem man die angeführten Reaktionen miteinander kombiniert, wird der Juglonnachweis sicherer. Das Gelingen der früher allein praktizierten Ammoniakreaktion genügt nicht, da z. B. das grüne Perikarp der Roßkastanie (*Aesculus Hippocastanum*) zwar die Ammoniakprobe gibt, die anderen aber nicht. Es dürfte sich also hier um einen anderen Körper handeln.

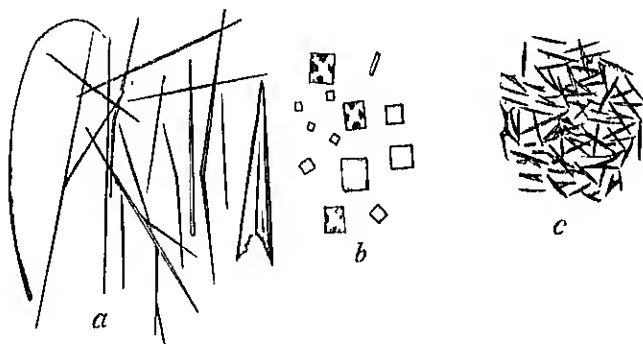


Fig. 59.

Juglonkristalle *a* und *b* gewonnen durch Sublimation, *c* durch Verdampfenlassen eines Safttropfens aus der grünen Fruchtschale von *Juglans regia* Vergl. 250

FUNKESTUCK und BRAUN (I) wiesen in den zur Familie der Droseraceen gehörenden Pflanzen *Drosera lunata* und *Dionaea muscipula* einen Körper nach, der zu den Juglonen gehören oder diesen nahestehen dürfte. Er kommt in der lebenden Zelle nicht kristallisiert, sondern in einer konzentrierten oder gesättigten Lösung vor, aus der er beim Absterben der Zelle z. B. durch Austrocknen oder durch Verletzung in Form von gelben Nadeln ausfällt. In ihrem Äußeren gleichen sie dem von MORISCH (IV) bei *Dionaea* entdeckten gerbstoffartigen Körper, obwohl sie sicherlich davon verschieden sind.

#### Vorkommen.

Nach den Untersuchungen von BRISSEMORET und COMBES (II) ist die Verbreitung des Juglons in der Familie der Juglandeen sehr groß. Sie konnten es bei *Juglans regia*, *J. nigra*, *J. cinerea*, *Carya olivaeformis* und *Pterocarya caucasica* nachweisen. Der Stamm führte es gewöhnlich im Bast, die Blätter in dem die Nerven begleitenden Parenchym, die Wurzel im Bast und Rindenparenchym und das Perikarp im Parenchym.

Ein ausgezeichnetes Objekt für den Juglonnachweis stellt die grüne Fruchtschale von *Juglans regia* dar, namentlich unreifer Früchte. Nach TUNMANN (I) führen die ganz jungen Nüsse  $\alpha$ -Hydrojuglon und Juglon, und zwar mit Ausnahme

der Epidermis im ganzen Gewebe. Die jungen Zellen, die später das steinharte Endokarp bilden, enthalten, solange sie noch nicht verholzt sind, Juglone. Den Hauptsitz aber stellen die noch unverdickten Zellen der grünen Schale dar.

TUNMANN hält die Zellen mit völlig farblosem Zellsaft für den Sitz des  $\alpha$ -Hydrojuglons, die mit gelblich gefärbtem Inhalt für den des Juglons.  $\alpha$ -Hydrojuglon geht im Gewebe leicht in Juglon über.

#### Lapachol

wird als ein Oxy-Amylen-Naphtochinon aufgefaßt und liefert bei Behandlung mit konzentrierter Schwefelsäure ein Chinon, das Lapachonon  $C_6H_4O_2$ . Beide Substanzen finden sich im Lapacheholze von *Tecoma speciosa* DC. und einigen anderen Nutzhölzern der Familie der Bignoniaceen. Nach TUNMANN (VII) läßt sich der Nachweis des Lapachols mit einem kleinen Splitter Holz durch Sublimation nachweisen. Man erhält hellgelbe kristallisierte Sublimat, deren Einzelkristalle bereits makroskopisch sichtbar sind. Monokline Prismen oder Tafelchen von chromgelber Farbe, im polarisierten Lichte in allen Farben leuchtend, mit teils gerader, teils schiefer Auslöschung und starkem Pleochroismus.

Die Kristalle sind unlöslich in Wasser, wenig löslich in Äther, Alkohol, leicht löslich in Chloroform, Aceton, Pyridin und Essigäther. Fügt man zu einem Lapacholsublimat wässeriges Ammoniak (kein Überschuß!), dann geben die kleinen Kristalle eine rote Lösung, während die großen sofort in drusenförmig angeordnete, dunkelrote, fast schwarze Nadeln übergehen, die im polarisierten Lichte kupferfarben erscheinen.

Auch im Gewebe läßt sich Lapachol mit Ammoniak nachweisen und hierbei zeigt sich, daß nach 1—2stündiger Einwirkung von Ammoniakdampf nur die Gefäße rot werden, weil das Lapachol nur hier seinen Sitz hat.

Im Anschluß sei noch ein eigenartiger Körper erwähnt, den WIMMER, CH (I) in *Germium pratense* und einigen anderen Arten dieser Gattung entdeckt hat. Es sind gelbe Rhomboeder und Prismenkombinationen einzeln, steinartig, drusig oder unregelmäßig gruppiert in Rinde und Mark der unterirdischen Organe. Sie werden mit allem Vorbehalt von ihrem Entdecker als aromatische, phenolische Verbindung angesprochen, die vielleicht Beziehungen zu der bei *Dionaea* gefundenen besitzt.

### V. Terpene, Harze und Kautschuk.

#### a) Terpene.

Zahlreiche Pflanzen führen in ihren Blättern, Blüten oder Früchten ölarartige Stoffe, die ihnen ihren eigenartigen Duft verleihen und die aus ihnen leicht durch Destillation mit Wasserdampf gewonnen werden können. Man hat sie früher als ätherische Öle in eine Gruppe vereinigt. Heute weiß man, daß es sich zum Teil um ihrer Natur nach sehr verschiedene Körper handelt und einen Hauptanteil der ätherischen Öle alizyklische Kohlenwasserstoffe von der Formel  $C_{10}H_{16}$  ausmachen, die man als Terpene bezeichnet.

Sie finden sich im Pflanzenreiche, insbesondere bei den Blütenpflanzen in den Sekretbehältern weit verbreitet vor: bei Coniferen, Rutaceen, Myrtaceen, Labiaten, Umbelliferen usw. Die ätherischen Öle der Pflanzen stellen meist Gemenge verschiedener Terpene, ihrer sauerstoffhaltigen Derivate und nicht flüchtiger Bestandteile wie Harzsäuren und anderer Stoffe dar.

Mikrochemische Spezialreaktionen sind bisher für die einzelnen Terpene nicht ausgearbeitet, ja selbst zuverlässige Gruppenreaktionen stehen noch aus. Man wird sich daher wohl damit bescheiden müssen, allgemeine Charakteristika herbeizuziehen, um die Zugehörigkeit zu den Terpenen, wenn möglich unter Anlehnung an die Befunde der Makroanalyse, wahrscheinlich zu machen. Die Terpene brechen das Licht sehr stark, lösen sich in Wasser nicht oder fast nicht, hingegen leicht in Äther, Chloroform, Benzol, Schwefelkohlenstoff und ätherischen Ölen, werden ebenso wie fette Öle durch Cyanin und Alkannin gefärbt und durch Osmiumsäure geschwärzt. Im Gegensatz zu fetten Ölen sind sie bei höheren Temperaturen leicht flüchtig.

**Löslichkeit.** Die ätherischen Öle lösen sich meist in denselben Lösungsmitteln wie die Harze und Fette, doch besteht insofern ein Unterschied, als die meisten ätherischen Öle unterm Deckglas sich leicht in Eisessig und in wässriger Chloralhydratlösung (fünf Teile Chloralhydrat und zwei Teile Wasser) lösen, während dies bei der Mehrzahl der Fette nicht der Fall ist (A. MEYER I, 29).

**Färbung.** Die meisten Farbstoffe, die Fette färben, tingieren auch die ätherischen Öle, daher läßt sich eine Unterscheidung daraufhin nicht begründen und auch das von PERROT (1) empfohlene Violett de Paris (ein Methylviolett) kann durchaus nicht als ein eindeutiges Reagens auf ätherische Öle betrachtet werden.

**Verdunstung.** Die ätherischen Öle sind flüchtig, die fetten Öle nicht. Diese wichtige Eigenschaft kann auch zur Diagnose herangezogen werden, doch ist dabei zu beachten, daß viele ätherischen Öle, namentlich wenn sie gekocht werden oder bei höherer Temperatur verdampfen, einen harzigen Rückstand hinterlassen (TSCHIRCH IV). Enthält ein Schnitt ätherisches Öl, so verschwindet es nach 5—15 Minuten andauerndem Kochen, während fettes Öl verbleibt. Bringt man frische Schnitte, ohne sie mit einem Deckglas zu bedecken, in einen Wärmekasten von 130°, so verflüchtet sich nach 10 Minuten das ätherische Öl, das fette nicht (A. MEYER I, 20).

**Salzsäuredämpfe.** MESNARD (I, II) benutzt die Einwirkung der Salzsäuredämpfe zur Unterscheidung der ätherischen von fetten Ölen. Auf einem Objektträger werden zwei Glasringe angeleimt, ein größerer höherer und darin ein kleinerer niedrigerer. Zwischen beide kommt reine Salzsäure. Der höhere Glasring wird mit einem Deckglas bedeckt, auf dessen Unterseite sich ein Hängetropfen, bestehend aus reinem, stark zuckerhaltigen Glycerin befindet. Die zu prüfenden Schnitte liegen in dem Hängetropfen. Werden sie den Salzsäuredämpfen ausgesetzt, so erscheint das ätherische Öl schon nach wenigen Augenblicken in Form von Tröpfchen, verschwindet aber alsbald. Auch die fetten Öle bilden unter den oben erwähnten Verhältnissen, aber nicht so rasch, sondern erst nach längerer Zeit, manchmal erst nach 24 Stunden, Tropfen und diese bleiben erhalten. Sie färben sich mit Joddämpfen gelb. Empfehlenswerte Objekte zum Einüben sind die Blütenblätter der Rose und des Veilchens für ätherische Öle und Diatomeen für fette Öle.

MAZURKIEWICZ (I) legte sich die Frage vor, in welchen Teilen die Zellen des duftenden Blumenparenchyms (*Lilium candidum*, *Convallaria majalis*, *Polianthes tuberosa* usw.) sich das ätherische Öl be-

findet. Indem er die Gerbstoffe durch Einlegen der Schnitte auf 24 Stunden in Wasser zunächst entfernte, die Fette verseifte und schließlich das ätherische Öl mit Osmiumsäure oder mit Cyanin färbte, gelang es ihm zu zeigen, daß das ätherische Öl in kleinen Vakuolen seinen Sitz hat, die sich in der äußeren oder in der inneren Plasmahaut befinden. Das Körnerplasma, der Zellsaft, der Zellkern und die Zellmembran enthalten hingegen kein ätherisches Öl.

Die oben angeführten Unterscheidungsmittel sind meist physikalischer Natur und es ist daher begreiflich, daß der mikrochemische Nachweis der ätherischen Öle noch an Unsicherheit leidet. Der Nachweis seiner Komponenten ist derzeit gewöhnlich überhaupt nicht möglich.

Neben den Terpenen  $C_{10}H_{16}$  gibt es noch Hydroterpene  $C_{10}H_{18}$ , von denen sich die Kampfer ableiten.

Die Kampfer sind meist fest und ihrer chemischen Natur nach Alkohole oder Ketone. Man unterscheidet monozyklische und bipyklische Kampfer.

Monozyklisch sind:	Menthol $C_{10}H_{20}O$
	Carvomenthol $C_{10}H_{20}O$
	Terpineol $C_{10}H_{18}O$
	Terpin $C_{10}H_{16}O_2$
	Menthon $C_{10}H_{18}O$
Bipyklisch sind:	Borneol $C_{10}H_{18}O$
	Kampfer $C_{10}H_{16}O$
	Fenchon $C_{10}H_{16}O$
	Caron $C_{10}H_{16}O$

Unter dem gewöhnlichen Kampfer ( $C_{10}H_{16}O$ ), auch Laurineenkampfer, chinesischer oder japanischer Kampfer genannt, versteht man das Stearopten aus dem ätherischen Öl des Kampferbaums *Cinnamomum Camphora* NEES et EBERM. Das den Kampfer enthaltende ätherische Öl findet sich in besonderen Sekretzellen aller Teile des Baumes. Der Kampfer kann sich schon in der lebenden Pflanze aus seinem Lösungsmittel ausscheiden und in den Spalten des Baumes kann es zu größeren Ablagerungen kommen. Der Kampfer bildet charakteristisch riechende, durchsichtige Kristalle des hexagonalen Kristallsystems. Er verflüchtigt sich leicht mit Wasserdampf, sublimiert leicht und löst sich rasch in den verschiedensten organischen Lösungsmitteln, aber wenig in Wasser.

Nach den Untersuchungen von TSCHIRCH und SHIRASAWA (1), die die Verteilung und die Entstehung des Kampfers im Kampferbaume verfolgt haben, entstehen bei *Cinnamomum Camphora* die Ölzellen schon früh unmittelbar hinter dem Vegetationspunkte. Bei jüngeren Pflanzenteilen bildet sich das ätherische Öl in der von TSCHIRCH benannten resinogenen Schicht. Mit dem Alter der Blätter nimmt der Gehalt an ätherischem Öl zu. Im alten Holze färbt sich das Öl orangegelb, geht später in das farblose Öl über und aus diesem bildet sich der kristallinische Kampfer. Der Umwandlungsprozeß beansprucht viele Jahre. Die im Parenchym liegenden Ölzellen enthalten mehr farbloses Öl und Kristalle als die der anderen Gewebe. Die Kristalle bestehen aus Laurineenkampfer. Man kann sich leicht davon überzeugen, wenn man Holzsplitter der Sublimation unterwirft. Die auf dem Deckglas sich bildenden Kristalle stimmen nach TSCHIRCH mit denen des Laurineenkampfers überein. Bilden sich in Hohlräumen und Spalten des Holzes größere

Kampfermassen, so sind sie durch Sublimation aus den Ölzellen an die sekundären Lagerstätten gelangt (SHIRASAWA I). Eine zweite wichtige Handelssorte des Kampfers ist der von dem gewöhnlichen Kampfer chemisch verschiedene Sumatra- (Borneo-, Baros-)Kampfer. Er stammt von *Dryobalanops aromatica* GAERTN., einem zu den Dipterocarpeen gehörigen Baume. Auch hier kommt es in den Spalthöhlen des Holzes zu großen Anhäufungen von kristallinen Massen des Kampfers (VOGL I).

### β) Harze.

So wie der Begriff Farbstoff der Praxis entnommen wurde, so auch der Begriff Harz. Chemisch lassen sie sich nicht scharf definieren. Man versteht darunter natürliche, dem Pflanzenreiche entstammende, feste oder halbfeste, Gummimassen ähnliche Körper, die in Wasser unlöslich, in Alkohol, Äther und Schwefelkohlenstoff zumeist löslich, kohlenstoffreich, sauerstoffarm und stickstofffrei sind und mit rußender Flamme brennen. Beim Erwärmen erweichen sie, schmelzen zu einer klaren klebrigen Flüssigkeit, widerstehen relativ stark verschiedenen Reagentien und unterliegen nicht der Fäulnis. Um die neuere Erforschung der Harze haben sich namentlich TSCHIRCH (I), der chemische und botanische Kenntnisse aufs glücklichste vereinigt, und seine Schüler in hohem Grade verdient gemacht. Eine vortreffliche Zusammenstellung der Naturgeschichte der Harze brachten BAMBERGER (I) und WIESNER (II). — Ein Harz stellt keinen einheitlichen Körper, sondern ein Stoffgemenge dar. Darin finden sich hauptsächlich esterartige, spaltbare Substanzen oder Resine, die widerstandsfähigen, indifferenten Resene, aromatische Säuren, Harzsäuren, ätherische Öle und gewisse Baisubstanzen. Man unterscheidet gewöhnliche Harze (Benzoe, Copal, Dammar usw.), Gummiharze und Balsame. Gummiharze enthalten neben gewöhnlichem Harz noch Gummi (*Asa foetida*, *Galbanum*, *Gutti* usw.). Balsame sind Harze von flüssiger oder halbflüssiger Konsistenz (Peru-, Copaiva-, Canada-balsam usw.).

Nachweis. Spezifische Reaktionen, die für den mikrochemischen Nachweis von Harzen oder ätherischen Ölen tauglich sind, gibt es nicht. Nur durch Heranziehung gewisser physikalischer Eigenschaften, wie Löslichkeit, Färbbarkeit und anderer Eigentümlichkeiten kann man beiläufig die Harznatur eines Körpers erweisen. Es ist daher keine leichte Sache, mit Sicherheit zu sagen, ob irgendein im Gewebe vorkommendes Tröpfchen ein ätherisches Öl bzw. Harz ist oder nicht.

In der Pflanze treten die Harze flüssig oder fest auf. Flüssig häufig in Form von stark lichtbrechenden, homogenen oder blasigen, schaumigen Tropfen. Fest in Form gelblicher bis brauner, meist amorpher Massen. Sie sind alle in Wasser unlöslich, die meisten, im Gegensatz zu den Fetten, in Alkohol löslich. Leicht löslich auch in Äther, Schwefelkohlenstoff, Terpentinöl, Benzol, Chloroform und ätherischen Ölen. In wässrigen Chloralhydratlösungen lösen sich die Harze entweder vollkommen (rezente Coniferenharze) oder sie quellen bloß auf (Dammar) oder sie bleiben unverändert (Copal). Gummiharze lösen sich in einer Chloralhydratlösung (60%) vollständig.

Alkannin. MÜLLER (I) verwendete zuerst als Farbreagens die Alkannawurzel. Ein Stückchen davon wird zu dem im Wasser liegenden

Präparat gelegt, mit einem Deckglas bedeckt und Alkohol von der Seite hinzugefügt. Etwa vorhandene Harz- oder ätherische Öltröpfchen färben sich sehr rasch intensiv rot. Ebenso wirkt verdünnte alkoholische Alkanninlösung (vgl. p. 21). TSCHIRCH (I, 1119) benutzt eine mit Wasser stark verdünnte Alkannatinktur (2 Teile Tinktur und 5 Teile Wasser), die Harz nicht mehr löst und doch noch gut färbt.

Kupferacetat UNVERDOR-BEN und FRANCHIMONT (I) haben die Eigenschaft der Harze, grüne Kupferverbindungen einzugehen, zum Nachweis benutzt. Man läßt die Objekte durch 5 bis 6 Tage in einer gesättigten wässrigen Lösung von essigsaurom Kupfer und wäscht dann mit destilliertem Wasser aus.

Das Harz ist dann selbst an sehr dünnen Schnitten an der smaragdgrünen Farbe in den Harzbehältern zu erkennen. Auch SCHWABACH (I) erzielte nach 10 Tagen Grünfärbung. Hingegen fand TUNMANN (III, 10) die Harze oft noch nach 1 Monat gelb und weich und erst nach Verlauf von mindestens 2 Monaten hart und tiefgrün. Bei vielen Harzen konnte überhaupt keine Färbung erzielt werden.

Anilintinktur. HAN-STEIN (I) verwendete eine alkoholische Lösung von Anilinviolett und Rosanilin zu etwa gleichen Teilen. Das Harz wird rein blau, etwa vorhandenes Gumm oder Schleim verschieden rot. Er benutzte dieses Reagens zum Nachweis der Harze und Gummiharze, die an den Blattknospen vieler dikotyler Pflanzen in Form eines Klebstoffes abgeschieden werden. Manche Balsame färben sich damit span- bis olivengrün. Die Harztröpfchen von *Alnus* wurden zum Teil blau, zum Teil rötlich. TUNMANN (III, 9) hält die Probe für unsicher, da eine reine Blaufärbung des Harzes nur selten gelingt.

Zucker und Schwefelsäure geben bekanntlich mit Eiweißkörpern eine rosenrote Färbung, die sogenannte RASPAISsche Reaktion. Dieselbe Färbung, geben, abgesehen von gewissen Fetten, auch viele Harze. Bringt man auf eine Visitenkarte, die mit harzsaurem Tonerde gelemmt ist, ein Tröpfchen konzentrierter Zuckerlösung und knapp daneben ein Tröpfchen konzentrierter Schwefelsäure, so färbt sich nach Vereinigung der Tröpfchen die betreffende Stelle nach einiger Zeit



Fig. 60.

Tannenblatt (*Abies pectinata*), Querschnitt. Schematisch. In der Mitte das Gefäßbündel, rechts und links je ein Harzgang *h*. Vergr. 30.

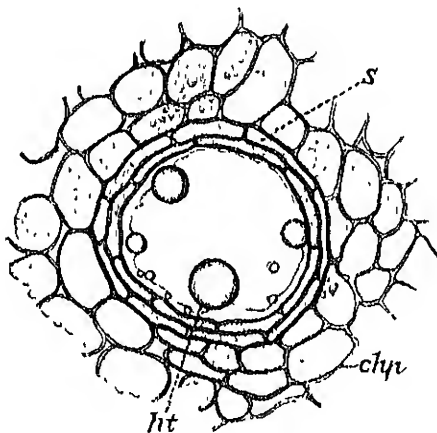


Fig. 61.

Harzgang des Tannenblattes im Querschnitt. 2 Schichten Sekretzellen *s*, die nach innen Harztröpfchen *ht* absecheiden. Um den Harzgang Chlorophyllparenchym *chp*. Vergr. 180



schön rot (MORITZ II). Die Ursache ist das Harz. Auf diese Weise läßt sich die Harzleimung nachweisen. Auch im Gewebe läßt sich diese Probe mit Erfolg verwerten, nur wird man natürlich auf etwa gleichzeitig vorhandenes Eiweiß oder Fett besonders achten müssen, um Verwechslungen zu vermeiden.

Sitz. Die Harze und ätherischen Öle (Terpene) finden sich in der Regel in schizogen oder lysigen oder schizolysigen entstandenen Interzellularen, die häufig von eigenartigen, die Sekretion bedingenden Zellen umschlossen sind, oder in Zellen selbst. Das Tannenblatt läßt am Querschnitt (Fig. 60) rechts und links je einen Harzgang  $h$  erkennen, der sich aus zwei Schichten schmaler Zellen, den Sekretzellen zusammensetzt, die in den eigentlichen Gang das Harz ( $h$ ) abcheiden (Fig. 61).

Über die Frage, wo das Harz oder das ätherische Öl entsteht, ob es im Innern der Sekretzellen auftritt und dann erst nach außen abgeschieden wird, oder ob es erst in der Wand selbst seinen Ursprung

nimmt, herrscht heute noch keine Einigung. TSCHIRCH (I, 1095) und seine Schule (TUNMANN III) verteidigen auf Grund ausgedehnter Untersuchungen die Ansicht, daß das Harz z. B. bei den Haaren in einer subkutikularen schleimigen Schicht, in der sogenannten „resinogenen“ Membranschicht, also abgetrennt vom Plasma, gebildet wird. Die nebenstehende Fig. 62 stellt ein Pelargonium-Drüsenhaar dar, dessen kugelige Endzelle als Drüse fungiert und unter der Kutikula ( $c$ ) ätherisches Öl absondert. Sowie die Sekretion beginnt, hebt sich die Kutikula ( $c$ ) ab, und zwischen ihr und der äußersten

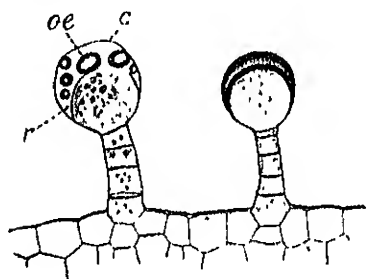


Fig. 62

2 Drüsenhaare von *Pelargonium zonale* W. In der kugeligen Endzelle hat sich zwischen der Kutikula  $c$  und der äußersten Membranschicht  $r$  ätherisches Öl  $oe$  angesammelt. Vergr. 250.

Membranschicht ( $r$ ), der resinogenen Schicht, sammelt sich das Öl in Tropfen an ( $oe$ ). Diese letztere ist es, in der nach TSCHIRCH das Öl entsteht. Für diese Auffassung spricht jedenfalls die Tatsache, daß im Lumen dieser Sekretzellen niemals Harz oder Öl weder optisch noch chemisch nachzuweisen ist.

### $\gamma$ ) Kautschuk.

Unter Kautschuk versteht man gewöhnlich den erhärteten Milchsaft verschiedener tropischer und subtropischer Pflanzen. Der sogenannte Rohkautschuk besteht aus einem Gemenge mehrerer Substanzen: Rein-kautschuk  $C_{10}H_{16}$ , Kautschukharz, Kohlehydraten, Eiweiß, anorganischen Verbindungen u. a. — Den Hauptanteil machen Kohlenwasserstoffe ( $C_{10}H_{16}$ )<sub>n</sub> aus, die nach HARRIES dimethylierte Cyklooktadienringe sind.

### Vorkommen

Kautschuk ist in Milchsäften sehr verbreitet: bei Euphorbiaceen, Apocynen, Asclepiadeen, Sapotaceen, Campanulaceen und Moraceen (MIKOSCH I), mehrfach auch bei Kompositen (GRAFF, LINSBAUER I). Seltener tritt Kautschuk nicht in Milchröhren, sondern in Sekretzellen auf, z. B. bei *Wimmeria* in den Zellen des

Bastos (METZ I), bei zahlreichen Hyppocrateaceen (SOLLEREDER I, FRITSCH I) und im Parenchym der Früchte der beiden Loranthaceen Strutanthus und Phytirusa (LITIS I).

**Mikrochemisches.** Der frische Milchsafte der Pflanzen erscheint im Mikroskope gewöhnlich als eine Flüssigkeit, in der unzählige Kügelchen, je nach der Pflanzenart von sehr verschiedener Größe, schweben. Sie sind entweder fast unmeßbar klein, schon an der Grenze der mikroskopischen Wahrnehmung (*Euphorbia*) oder sie erreichen die Größe von mehreren Mikronen, wie die Kautschukkügelchen der *Artocarpus*, *Morea* und anderer Familien. Dazwischen gibt es mannigfache Übergänge. Die Fig. 63 zeigt das mikroskopische Bild des frischen Milchsafte von *Ficus elastica*, dessen relativ große Kügelchen aus Kautschuk bestehen.

Über den mikroskopischen Nachweis des Kautschuks habe ich mich seinerzeit folgendermaßen ausgesprochen (MOLISCH III, 53): Ich habe viele Versuche angestellt, um mikrochemische Methoden ausfindig zu machen, welche es gestatten würden, z. B. Kautschukkügelchen von Kügelchen des Harzes zu unterscheiden und im Milchsafte mikrochemisch als solche nachzuweisen, allein ich bemerke gleich im voraus, daß mich meine Resultate nicht befriedigt haben. Immerhin will ich einige Tatsachen anführen, welche bei der mikrochemischen Analyse Beachtung verdienen.

Wenn man auf die Kügelchen des Milchsafte von *Ficus elastica* absoluten Alkohol einwirken läßt, so löst sich der größte Teil der Kügelchen auf, es bleibt aber ein unlöslicher Rest. Bei *Broussonetia papyrifera* und *Ficus Carica* kann auch eine Art Hülle zurückbleiben. Daraus geht hervor, daß diese Kügelchen zum mindesten aus zwei Substanzen bestehen, einer in absolutem Alkohol löslichen und einer darin unlöslichen. Diese letztere dürfte vornehmlich aus Kautschuk bestehen, da ja Kautschuk gleichfalls in Alkohol unlöslich ist und da sich dieser Rest bei Zufluß von Wasser und bei sanftem Druck auf das Deckglas leicht zu wurstartigen Massen ballen läßt, die die physikalischen Eigenschaften des Kautschuks erkennen lassen. Lösend wirken auf die genannten Kügelchen auch Äther, Benzol und Schwefelkohlenstoff. Hingegen sind sie unlöslich in Wasser, Glycerin, verdünnten Säuren und Alkalien. Bei Behandlung mit Chloralhydrat (5 Teile Chloralhydrat auf 2 Teile Wasser) quellen sie unter dem Deckglas momentan um das Mehrfache ihres Volumens oft zu unregelmäßigen, amobenartigen Klumpen auf, die sich dann noch zu größeren Ballen vereinigen können. Spezialreaktionen auf Kautschuk kennt man nicht und es ist daher tatsächlich nicht gerade leicht und in allen Fällen möglich, Kautschukkügelchen von Fett- oder Harztröpfchen zu unterscheiden, zumal die Löslichkeitsverhältnisse der drei genannten Substanzen vielfach übereinstimmen und Osmiumsäure nicht bloß Fett-, sondern auch Kautschuktröpfchen bräunt. Bemerkenswert ist, daß Kautschukkügelchen von *Ficus elastica* und vielen anderen von mir geprüften Pflanzen mit konzentrierter Zuckerlösung und Schwefelsäure sehr schön die RASPAIS'sche Reaktion geben, sich also in verschiedenen Nuancen rot-violett färben. Diese Färbung beruht nicht etwa auf einer Reaktion von Eiweiß, denn dieses ist im *Ficus*-Milchsafte nur in geringen Mengen vorhanden, son-

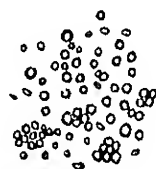


Fig. 63  
Kautschuk-  
kügelchen im  
Milchsafte von  
*Ficus elastica*  
Vergr. 500

dern rührt vom Kautschuk her. Da auch diese Reaktion vieldeutig ist, bleibt nichts anderes übrig als möglichst viele Eigenschaften des Kautschuks beim mikroskopischen Nachweis heranzuziehen und dabei auch die Makroanalyse zu beachten.

## VI. Gerbstoffe.

Es sei gleich bemerkt, daß mit diesem Worte kein bestimmter chemischer Begriff verbunden werden darf, da unter Gerbstoffen in der Botanik ganz verschiedene, miteinander gar nicht verwandte Körper bezeichnet worden. Ursprünglich war der Begriff ein rein praktischer. Substanzen, die zum Gerben der tierischen Haut dienten, nannte man Gerbstoffe oder Gerbsäuren. Sie geben mit Eisenchlorid eine blaue oder grüne Färbung oder Fällung und werden mit Leimlösung gefällt.

Da nun später noch zahlreiche andere, ungenau bekannte Substanzen zufällig auch die erwähnten Reaktionen gaben, so zählte man sie auch zu den Gerbstoffen, wodurch der Begriff ganz unscharf wurde. So sagt BEILSTEIN (I) mit Recht: „Es werden gegenwärtig unter der Bezeichnung Gerbstoffe eine Reihe verschiedenartiger Körper zusammengefaßt, denen eigentlich nur die Eigenschaft gemeinsam zukommt, mit Eisenchlorid eine blaue oder grüne Färbung zu erzeugen. Diese Verbindungen haben meist einen zusammenziehenden Geschmack, werden von Leimlösung gefällt, reduzieren die Lösungen der edlen Metalle, absorbieren in Gegenwart von Alkalien Sauerstoff und braunen sich dabei. Sehr häufig schlagen sie sich auf der frischen tierischen Haut nieder, aber nicht immer wird hierbei eine Gerbung bewirkt, d. h. der Haut die Fähigkeit zu fäulen benommen und zu dem geschmeidigen „Leder“ auszutrocknen . . . Die Gerbstoffe sind meist saurer Natur.“ Wenn man aber bedenkt, daß Eisenchlorid nicht bloß mit Säuren (Salicylsäure, Gallussäure), sondern auch mit Phenolen, Alkoholen, Aldehyden usw. Färbungen erzeugt, so ist wohl anzunehmen, daß die jetzt als Gerbstoffe bezeichneten Körper den verschiedensten Körperklassen der organischen Chemie angehören. So wie die Gruppe der Farbstoffe und Bitterstoffe keine natürliche Gruppierung bedeuten, so auch die der Gerbstoffe. REINITZER (I), der auf diese Verhältnisse besonders aufmerksam gemacht hat, macht daher sogar den Vorschlag, die allgemeinen Bezeichnungen „Gerbstoffe“ und „Gerbsäuren“ nur auf die technische Chemie und die Praxis zu beschränken. Wenn der Botaniker trotzdem im allgemeineren Sinne von Gerbstoffen spricht, so wird er sich den oben berührten Sachverhalt stets vor Augen halten und bei seinen Schlüssen, besonders wenn makroanalytische Belege fehlen, die nötige Vorsicht und Reserve beobachten müssen. Genaueres über die Definition der Gerbstoffe findet man bei DEKKER (I) und FREUDENBERG (I).

Nach den neuesten Untersuchungen müssen die natürlichen Gerbstoffe als mehrwertige Phenolderivate aufgefaßt werden. Sie zeichnen sich durch eine gewisse Häufung von Hydroxylen im Molekül und eine begrenzte Wasserlöslichkeit in ihrer kristallisierten Form aus. Sie sind alle im kalten Wasser schwer, im heißen Wasser leichter löslich und binden Kristallwasser. Kristallisieren sie nicht, so sind sie im Wasser leichter löslich.

### Nachweis.

Die zum Nachweis von Gerbstoffen verwendeten Reagentien sind hauptsächlich entweder Eisen- oder Kupfersalze, durch die die entsprechenden Gerbstoffverbindungen gebildet werden, oder oxydierende Körper, die charakteristische Reaktionen vielfach noch unbekannter Natur hervorrufen.

#### a) Eisensalze.

Eisenvitriol. LOEW und BOKORNY (I, 370) empfehlen eine wässrige, kalt bereitete konzentrierte Lösung. Erwärmen auf 60° beschleunigt das Eindringen des Eisenvitriols und die Reaktion. Um z. B. in *Spirogyra* Gerbstoff nachzuweisen, läßt man die Fäden 12 bis 24 Stunden in der Lösung bei Luftzutritt liegen. Bei Anwesenheit von Gerbstoff werden sie blau.

Eisenchlorid in verdünnter wässriger Lösung wirkt ähnlich. Ein Überschuß der gewöhnlich sauer reagierenden Lösung ist zu vermeiden, weil sich die gebildeten gerbsauren Eisenverbindungen darin leicht lösen, auch diffundieren die Eisensalze langsam.

H. MOELLER (I, p. LXVII) verwendet daher, um eine schnellere Wirksamkeit zu erzielen, wasserfreies Eisenchlorid in wasserfreiem Äther gelöst, ferner Eisenacetat in Form der *tinctura ferri acetici*, wo es sich um raschen Nachweis der Gerbsäure oder um die Verwendung großer Gewebestücke handelt.

WISSELINGH (I, 161) empfiehlt Ferrichlorid, Ferrisulfat, Ferriammoniumsulfat und Ferrizitrat in 1–10proz. Lösung.

#### b) Kupferacetat

führte MOLL (I) zum Nachweis von Gerbstoff ein und kombinierte es gleichzeitig mit dem Eiseneagens. Er verfährt in folgender Weise. Die Pflanzenteile werden in kleinen Stücken lebend in eine gesättigte Lösung von Kupferacetat (7%) gebracht und hier 8 bis 10 Tage belassen. Die nach dieser Zeit gemachten Schnitte werden für einige Minuten in einen Tropfen Eisenacetatlösung (0,5%) auf den Objektträger getaucht, in Wasser abgespült, in Alkohol zur Entfernung von Chlorophyll und Luft gelegt und schließlich in Glycerin untersucht. Der Inhalt der gerbstoffführenden Zellen wird sehr dunkel, fast schwarz gefärbt, und hebt sich von den farblosen Wänden scharf ab. Der Unterschied zwischen eisengrünenden und eisenbläuernden Gerbstoffen gibt sich deutlich zu erkennen. So werden in Zweigen von *Fagus* die Zellen der Rinde grün, die des Markes aber blau.

Beabsichtigt man den Zellinhalt gleichwertig zu fixieren, so ist es nach KLERCKER (I, 8) zweckmäßig, an Stelle der wässrigen Kupferacetatlösung eine konzentrierte alkoholische Lösung dieses Salzes, die im Dunkeln aufzubewahren ist, zu verwenden.

#### c) Kaliumbichromat

liefert mit Gerbstoffen einen voluminösen, kastanienbraunen Niederschlag (SANTO I, 17), der im Überschuß des Reagens ungelöst bleibt und wie MOELLER (I) vermutet, vielleicht Purpurogallin oder ein ihm nahestehender Körper sein dürfte. Verwendet wird eine konzentrierte wässrige Lösung dieses Salzes. Darin werden die Pflanzenteile für ein oder mehrere Tage eingelegt, ausgewaschen, geschnitten und schließ-

lich in Glycerin untersucht. Um die Reaktion zu beschleunigen, verwendet man entweder eine kochende Lösung (KLERCKER I, 8) oder man fügt dem Reagens einige Tropfen Essigsäure hinzu (MOELLER I, p. LXX).

Ähnlich wie Kaliumbichromat wirkt auch verdünnte (1%) Chromsäure, sie fixiert auch gleichzeitig den Zellinhalt. Zu beachten ist, daß auch verschiedene, nicht zu den Gerbstoffen gehörige Körper mit Kaliumbichromat ähnliche Färbungen und Fällungen geben (NICKEI, I, 73).

#### d) Osmiumsäure.

Da Gerbstoffe meist stark reduzierende Eigenschaften haben, so können sie bei Silber-, Quecksilbersalzen und insbesondere auch bei Osmiumsäure eine Schwärzung hervorrufen. Es entsteht mit Osmiumsaure eine bläuliche, himmelblaue oder braune Lösung, deren Färbung vielleicht auf einer äußerst feinen Verteilung reduzierten Osmiums beruht, oder eine schwarze Fällung. Fügt man zuerst zu dem Schnitt etwas Salzsäure und dann einige Tropfen Osmiumsäure (1%) zu, so bildet sich fast sofort eine blaue Färbung oder Fällung (DUREUR I, 3 d. Sep.). Von Gerbstoff durchtränkte Eiweißkörper färben sich mit Osmiumsäure braun, wie man sich leicht an den Stachelkugeln im Zellinhalt von *Nitella* überzeugen kann (OVERTON I, 5).

#### e) Molybdänsaures Ammon.

Eine Lösung von diesem Salz in konzentriertem Chlorammonium gibt mit Gerbstoffen einen reichlichen gelben Niederschlag. Sie gibt mit Digallussäure eine rote Färbung. Die Verbindung mit Gallussäure ist in Chlorammonium löslich, die mit Tannin nicht (GARDINER I).

WISSELLINGH (I, 163) arbeitete bei seinen Versuchen mit *Spirogyra* mit einem Gemisch von gleichen Teilen 25proz. Ammoniumchloridlösung, 5proz. Ammoniummolybdatlösung und dest. Wasser.

#### f) Natriumwolframat.

Da die mit dem vorigen Reagens (r) erhaltenen Gerbstoffniederschläge in Wasser und verdünnten Säuren löslich sind und das Reagens sehr wenig haltbar ist, schlug BRAEMER (I) ein neues vor, nämlich Natriumwolframat mit Natriumacetat nach folgendem Rezept: Natriumwolframat 1 g, Natriumacetat 2 g und destilliertes Wasser 10 cem. Dieses Reagens färbt die Gallussäure braun, die Gallusgerbsäure fahlgelb. Die Anwesenheit von konzentrierter Weinsäure oder Zitronensäure verhindert die Reaktion. Mit Eiweißstoffen und den Gerbstoffen ähnlichen Körpern treten keine Fällungen ein, die letzteren geben nur gelbe Töne, während die eigentlichen Gerbsäuren strohgelbe Niederschläge liefern, die in Wasser, in sauren und basischen Salzlösungen unlöslich sind. Die Reaktion tritt momentan ein und ist sehr empfindlich. Der Niederschlag erscheint als eine granulöse gelbe Masse im Inhalte der Zelle.

#### g) Alkalikarbonate.

Natrium-, Kalium-, Ammoniumkarbonat, Chlorammonium und freies Ammoniak geben mit Gerbstoffen festweiche Niederschläge,

Bikarbonate aber nicht (KLERCKER I). Es entstehen kugel- oder stäbchenförmige Körper, die, eben entstanden, nach dem Auswaschen des Karbonats sich wieder lösen, nach längerem Bestehen aber ungelöst bleiben. Da solche Fällungen gewöhnlich nur in gerbstoffhaltigen Zellen entstehen und die erwähnten Fällungen auch andere Gerbstoffreaktionen zeigen, so muß man wohl annehmen, daß es sich hier um Gerbstoffe handelt.

Verwendet werden 1 bis 5proz. Lösungen der Alkalikarbonate, in die man die Schnitte einlegt. Oder man kultiviert die Pflanzen in sehr verdünnten 0,02proz. Lösungen. Als Versuchsobjekt sei empfohlen: *Spirogyra*.

#### b) Methylenblau.

PFEFFER (I, 186) hat gezeigt, daß viele Pflanzen aus sehr verdünnten Methylenblaulösungen den Farbstoff mit großer Gier aufnehmen, im Zellinhalt speichern und hier sogar oft in kristallisierter Form ausscheiden. Der Farbstoff geht mit gewissen Stoffen Verbindungen ein und als eine sehr häufige wurde die des Methylenblaus mit Gerbstoff erkannt. KLERCKER (I) bezeichnet Methylenblau geradezu als das empfindlichste Gerbstoffreagens. Er empfiehlt es besonders für Wasserpflanzen und Wurzeln. Als Kulturflüssigkeit verwendet man einen Teil Methylenblau in 500000 Teilen filtrierten Regenwassers. In dieser Lösung verbleiben die Objekte 1 bis 24 Stunden. Zunächst entsteht bei Gogenwart von Gerbstoff ein schwach blauer Vakuolen- oder Zellsaft, woraus nachher ein blauer Niederschlag ausfällt. Die Reaktion ist wertvoll, weil sie direkt mit der lebenden Zelle eintritt und sich *intra vitam* beobachten läßt. Aber auch diese Probe ist nicht eindeutig, da der Farbstoff auch von anderen Substanzen, z. B. von Phloroglucin gespeichert wird, ja WISSELINGH (I, 177) kommt überhaupt zu dem Schlusse, daß dem Methylenblau als Gerbstoffreagens kein Wert beizulegen ist. Gute Versuchsobjekte für die Reaktion sind *Zygnema cruciatum*, *Mesocarpus*, Wurzel und Stengel von *Salix*, Keimlinge von *Polygonum lagopyrum* usw.

#### 1) Jod

SPEERLICH (I) empfiehlt neuestens freies Jod als ein ausgezeichnetes Gerbstoffreagens, das sich den üblichen Gerbstoff-Reagentien gleichwertig an die Seite stellen läßt. Er fand, daß freies Jod in Spuren ohne Schädigung des lebenden Plasmas in die Zelle dringt und die im Zellsafte gelösten Gerbstoffe zur allmählichen Bildung fester, nahezu unangreifbarer, wahrscheinlich den Phlobaphenen nahestehender Körper von verschieden getönter brauner Farbe veranlaßt.

SPEERLICH verfährt in folgender Weise. In ein kleines ungefähr 5 cem fassendes Glasröhrchen gibt man einen 1—2 mm messenden Jodsplitter und gießt 1 cem Wasser darauf. Nun werden einige wenige frische Schnitte in das noch völlig farblose Jodwasser eingeführt, ohne zu schütteln. In diesem mit einem Korkpfropf verschlossenen Gläschen verbleiben die Schnitte höchstens 12—21 Stunden und werden dann zur Differenzierung in Alkohol übertragen. Dieser entzieht das reichlich gespeicherte Jod den Holzzellwänden, dem Plasma und anderen Bestandteilen der Zelle, aber nicht den braunen gefüllten Gerbstoffkörpern, die sich in dem aufgehollten Schnitte um so mehr abheben. Der Vorteil der Jodgerbstoff-Reaktion liegt in ihrer Sauberkeit und in der gleichzeitigen und kontrastreichen Hervorhebung von Gerbstoffen und Stärke im Gewebe.

Zum Schlusse sei nochmals betont, daß keine von den angeführten Reaktionen mit Sicherheit Gerbstoff erweist, es ist ja dies auch schon mit Rücksicht auf den höchst schwankenden Begriff Gerbstoff unmöglich. Man wird daher tunlichst unter Berücksichtigung der Makroanalyse möglichst viele der angeführten Proben kombinieren und sich nicht bloß auf eine verlassen.

Von Autoren, die sich in neuerer Zeit mit dem Nachweis von Gerbstoffen beschäftigten, seien noch genannt: LIDFORSS (I), MARPMANN (I), MANEA (I) und besonders WISSELINGH (I). Dieser prüfte über 60 Gerbstoffreagentien, darunter auch die bereits angeführten, auf ihre Brauchbarkeit an *Spirogyra maxima* und kam zu dem Ergebnis, daß der Gerbstoff dieser Alge dem Tannin sehr ähnlich ist, daß er im Zellsaft vorkommt und daß die Niederschläge, die Ammoniumkarbonat, Koffein, Antipyrin und andere basische Stoffe darin hervorrufen, Gerbstoff- und keine Eiweißniederschläge sind. Er erblickt namentlich in der 1proz. wässrigen Lösung des Koffeins und Antipyrins zwei ausgezeichnete Gerbstoffreagentien, weil sie sich in ganz besonderem Grade dazu eignen, Versuche über die physiologische Bedeutung des Gerbstoffes an der lebenden Pflanze anzustellen, ohne ihr zu schaden. Das von CZAPEK eingeführte Phenylhydrazin verwendet WISSELINGH (I, 167) in konz. Lösung.

#### Vorkommen und Sitz.

Die Gerbstoffe finden sich im Pflanzenreiche von den Algen bis zu den Dikotylen aufwärts so weit verbreitet vor, daß man von einer speziellen Aufzählung hier absehen kann, zumal die wichtigeren Vorkommnisse ziemlich vollständig von CZAPEK (II) zusammengestellt worden sind. Da vielfach, namentlich bei den Kryptogamen, nur mikrochemische Reaktionen vorliegen, läßt sich natürlich darüber nichts Bestimmtes sagen, ob die hier mit Eisensalzen oder anderen Stoffen reagierenden Körper den Gerbstoffen der Phanerogamen, mehrwertigen Phenolen oder anderen Verbindungen entsprechen.

Der Gerbstoff findet sich nie im Plasma und Zellkern, sondern ursprünglich stets im Zellsaft vor. Entweder im großen Zellsaitraum oder in besonderen Behältern, in Plasmavakuolen, die durch Verschmelzung kleiner, Gerbstoff führender Safräume gebildet werden. Seltener tritt der Gerbstoff in Form von nicht flüssigen amorphen Massen auf (*Marsilia*, *Doronicum*) oder in der Zellmembran (*Gibbaldia* und *Faba*).

Jungst hat v. SCHOENAU (I) im Anschluß an eine Beobachtung von GOEBEL (I) auf die eigentümliche Verfärbung der Blätter bei *Polytrichaceen* aufmerksam gemacht, die auf einer Oxydation des in der Membran befindlichen Gerbstoffs beruht. Legt man einen Rasen von *Polytrichum commune* in Leitungswasser, so tritt eine starke, bis ins Schwarze gehende Bräunung ein, ohne daß die Blätter dabei abzustorben brauchen. Derselbe Versuch, mit destilliertem Wasser durchgeführt, gibt keine Verfärbung. Wie bereits CZAPEK (I, 365) dargetan hat, enthalten die Membranen zahlreicher Moose, besonders reichlich die *Dicranaceen* Gerbstoff („*Dicranumgerbsäure*“), und dies ist auch bei den *Polytrichaceen* der Fall. Unter dem Einfluß der alkalischen Substanzen des Leitungswassers oder absichtlich zugesetzter, verdünnter alkalischer Verbindungen nehmen die gerbstoffführenden Membranen von *Polytrichum* infolge der Oxydation des Gerbstoffs eine braune Färbung an, die dann in einer Braunfärbung der ganzen Blätter zum Ausdruck kommt.

Häufig werden die Membranen postmortal vom Zellinhalt aus mit Gerbstoff infiltriert, wie das in vielen Rinden und Hölzern der Fall ist. — Die Gerbstoffe erfüllen entweder ganze Zellkomplexe (viele Rinden, Hölzer, Gallen) oder nur einzelne Zellen, wie die Gerbstoffidioblasten von Sedum- und Echeveria-Arten, die Gerbstoffschläuche in Mark und Rinde von Sambucus nigra. Speichert ein Gewebe Stärke und Gerbstoff, so werden in der Regel beide Stoffe nicht in einer und derselben Zelle aufgestapelt. Abbau des einen Stoffes läuft der Speicherung des anderen gewöhnlich parallel und in inhaltlich homogenen Geweben räumt im Laufe der Entwicklung der eine Körper dem anderen das Feld (SPERLICH I, 151). Durch Sauerstoffaufnahme bilden sich in den Rinden, im Kernholz und anderen Geweben aus Gerbstoffen eigenartige braune oder braunrote Farbstoffe, die von STÄHSELIN und HORSTETTER (I) als Phlobaphene bezeichnet wurden. Ihre Muttersubstanzen sind ursprünglich gewöhnlich im Zellinhalt gelöst, werden aber später häufig von den Membranen absorbiert. Hierher gehören das aus der Chinagerbstoffe entstehende Chinarot, das sich aus der Eichengerbstoffe bildende Eichenrot, das Tormentillrot, Zimtröt, Filixröt, das Kinorot, Catechuröt und verschiedene andere (TSCHIRCH II). Die Phlobaphene treten im Zellinhalt oder in der Zellhaut oder in beiden auf. Zahlreiche Rinden verdanken den Phlobaphenen ihre Farbe. Auch die sklerotischen braunen Zellwände vieler Farne sind durch Phlobaphene gefärbt (WALTER I, 18). Da es für sie derzeit keine spezifischen mikrochemischen Reaktionen gibt, soll hier nicht näher auf diese Stoffe eingegangen werden.

## Literatur

zu p. 141 bis 176

- Abderhalden, E., I. Biochemisches Handlexikon 1911, Bd. IV, p. 681  
 Bamberger, M., I. Die Harze. In Wiesners „Die Rohstoffe des Pflanzenreichs“ 1900, II. Aufl., Bd. I, p. 130  
 Behrens, J., I. Über das Vorkommen des Vanillins in der Vanille (Der Tropenpflanze 1899, Jg. 3, p. 299)  
 Behrens, H., I. Anleitung zur mikrochemischen Analyse. 1907, Abt. 4, p. 71  
 Beilstein, F., I. Handbuch der organischen Chemie 1890, 2. Aufl., p. 431  
 Bertel, R., I. Über Tyrosinabbau in Keimpflanzen. (Ber. d. Deutsch. bot. Ges. 1902, Bd. XX, p. 454)  
 Borodin, J., I. Über die physiologische Rolle und die Verbreitung des Asparagins im Pflanzenreiche (Bot. Ztg. 1878, Jg. 30, p. 816)  
 —, II. Über einige bei Bearbeitung von Pflanzenschnitten mit Alkohol entstehende Niederschläge. (Bot. Ztg. 1882, Jg. 40, p. 589)  
 Borščow, El., I. Beiträge zur Histogenie der Pflanze (Bot. Ztg. 1874, p. 17)  
 Braconer, L., I. Un nouveau réactif histo-chimique des tannins. (Bull. soc. d'Hist. Nat. de Toulouse. Séance d. 23 janvier 1880. Ref. Ztschr. f. Mikr. 1880, Bd. VI, p. 114)  
 Braun, I. Über das Vorkommen von Sphärokrystallen aus Traubenzucker in den verschiedenen Drogen. (Ztschr. d. allg. österr. Apoth.-Ver. 1878, Bd. XVI, p. 341.)



- Brissemoret, A. u. Combes, R., I. Über eine Reaktion der Oxychinone. (Journal Pharm. Chim. [6], 25, p. 53—58. Ref. Chem. Zbl. 1907, Jahrg. 78, p. 994.) — II. Sur le juglon. (Comptes rend. 1905, T. CXXI, p. 838.)
- Busse, W., I. Studien über die Vanille. (Arbeit a. d. Kais. Gesundheitsamte 1898, Bd. XV.)
- Cazeneuve und Hugouenq, I. Bull. de la Soc. chim. 1888, 49, p. 399.
- Czapek, F., I. Zur Chemie der Zellmembranen bei den Laub- und Lebermoosen. (Flora 1889, Bd. LXXXVI.)
- , II. Biochemie der Pflanzen. Jena 1920. Bd. III, p. 504.
- , III. Zur Kenntnis der silberreduzierenden Zellsubstanzen in Laubblättern. (Ber. d. Deutsch. Bot. Ges. 1920, p. 246.)
- , IV. Über die sogenannten Ligninreaktionen des Holzes. (Zeitschr. f. physiol. Chemie 1899.)
- Dekker, J., I. Die Gerbstoffe. Berlin 1913.
- Dohrn und Thiele, I. ADLERITALDENS biochemisches Handlexikon. Bd. I, 2. Hälfte, 1911.
- Dufour, J., I. Notices microchimiques sur le tissu épidermique des végétaux. (Bull. de la Soc. vaud. d. Sc. nat. Vol. XXII, No. 91. Zit. nach ZIMMERMANN, Bot. Mikrotechnik. Tübingen 1892.)
- Flückiger, F. A., I. Pharmakognosie 1887, 1. Aufl., p. 585.
- Franchmont, A. P. N., I. Zur Kenntnis der Entzehrung der Harze im Pflanzenorganismus usw. (Flora 1871, p. 225.)
- Freudenberg, K., I. Die Chemie der natürlichen Gerbstoffe. Berlin 1920.
- Fritsch, F. E., Untersuchungen über das Vorkommen von Kautschuk bei den Hippocrateaceen usw. (Beihfte z. Bot. Zbl. 1902, Bd. XI, p. 283.)
- Fünfstueck, M., und Braun, R., I. Zur Mikrochemie der Droseraceen. (Ber. d. Deutsch. Bot. Ges., Bd. XXXIV, 1916, p. 160.)
- Gardiner, W., I. The determination of Tannin in vegetable cells. (The Pharm. Journ. and Transactions, No. 709, 1884, p. 588. Ref. in der Zeitschr. f. Mikroskopie 1884, Bd. I, p. 461.)
- Géneau de Lamarlière, I. Sur la présence de certaines membranes cellulaires d'une substance à réactions aldéhydiques. (Bull. de la société bot. de France T. L. 1903, p. 268.)
- Goebel, K. v., Experimentelle Morphologie der Pflanzen. 1908, p. 36.
- Grafe, V., u. Linsbauer, K., I. Über den Kautschukgehalt von Lactuca viminea Presl. (Zeitschr. f. d. landw. Versuchswesen i. Österr. 1909, p. 126.)
- Grafe, V., I. Untersuchungen über die Holzsubstanz usw. (Sitzungsber. d. Akad. d. Wiss. i. Wien, 1901, Bd. CXIII, p. 295.)
- Hanausek, T. F., I. Zur Kenntnis der Anatomie der Dattel und ihrer Inkluden. (Pharm. Post 1910, Bd. LXIII, p. 1041.)
- , II. In WIESMANN'S Rohstoffe, 2. Aufl., Bd. II, p. 855.
- Hanstein, J., I. Über die Organe der Harz- und Schleimabsonderung in den Laubknospen. (Bot. Ztg. 1868, p. 708.)
- Hartwich und Winckel, I. Archiv d. Pharm. 1904, 242, p. 464.
- Maushofer, K., I. Mikroskopische Reaktionen. Braunschweig 1885, p. 72.
- Heyl, Gg., und Tunmann, O., I. Santoninfreie flores Cinas. (Apotheker-Ztg. Berlin 1913, Jg. 28, p. 248.)
- Herrmann, O., I. Nachweis einiger organischer Verbindungen in den organischen Geweben. Diss. Leipzig 1876.
- Hühnel, F. v., I. Histochemische Untersuchungen über Xylophilin und Coniferin. (Sitzungsber. d. Kais. Akad. d. Wiss. i. Wien 1877.)

- Ilits, H., I. Über das Vorkommen und die Entstehung des Kautschuks bei den Kautschukmisteln (Sitzungsber. d. Kais. Akad. d. Wiss. i. Wien 1911, Bd. CXX, Abt. I, p. 217.)
- Joachimowitz, M., I. Ein neues Reagens auf Phloroglucin, Catechin und ihre Derivate, sowie über die Verhütung derselben im Pflanzenreiche. (Biochem. Zeitschr., Bd. LXXXII, 1917, p. 324.)
- Klarskor, J. af, I. Studien über die Gerbstoffvakuolen. Diss. Tübingen 1888.
- Kofler, L., I. *Asarum europaeum*. Ein Beitrag zur Kenntnis des Rhizoms (Pharm. Zentralhalle f. D. 1918, p. 279.)
- Leitgeb, H., I. Der Gehalt der Dahliaknollen an Asparagin und Tyrosin. (Mitt. a. d. bot. Inst. z. Graz 1888, Bd. VI, p. 229.)
- Lidforss, B., I. Über die Wirkungssphäre der Glykose und Gerbstoffreagentien. (Lunds Univ. Afskr., T. XXVIII, 1892.)
- , II. Über eigenartige Inhaltskörper bei *Potamogeton proclongus*. (Bot. Zbl. 1898, Bd. LXXIV, p. 305.)
- Lindt, O., I. Über den Nachweis von Phloroglucin (Zeitschr. f. wiss. Mikroskopie 1885, Bd. II, p. 495.)
- Loew, O., u. Bokorny, Th., I. Über das Verhalten von Pflanzenzellen zu stark verdünnter alkalischer Silberlösung II. (Bot. Zbl. 1889, Bd. XXXIX.)
- Lundström, A. N., I. Über farblose Öoplastiden und die biologische Bedeutung der Ötropfen gewisser *Potamogeton*-Arten. (Bot. Zbl., Bd. XXXV, p. 177.)
- Manon, A., I. *Acid gallotann et digall.* (Thèse) Genève 1904.
- Marpmann, G., I. Mikrohchemischer Nachweis der Oxykarbonsäure, Gallussäure und der Gerbstoffe. (Zeitschr. f. angew. M. 1900, Bd. VI, p. 6.)
- Mazurkiewicz, W., I. Über die Verteilung des äther. Oles im Blattenparenchym und über seine Lokalisation im Zellplasma (Zeitschr. d. allg. österr. Apotheker-Ver. 1913, p. 241.)
- Mesnard, E., I. Rech. sur le mode de production de parfum d. l. fleurs. (Compt. rend. 1892, T. CXXV, p. 892.)
- , II. Recherches sur la localisation des huiles grasses dans la germination des graines (Ebenda 1893, T. CXXVI, p. 111.)
- Metz, A., I. Anatomie der Laubblätter der *Celastraceen* usw. (Beih. z. Bot. Zbl. 1903, Bd. XV, p. 309.)
- Meyer, A., I. Das Chlorophyllkorn usw., p. 28. Leipzig 1883.
- Miksch, K., I. Über die Organe der Ausscheidung der Betuloretinsäure an der Birke. (Österr. bot. Zeitschr. 1876, Jg. 26, p. 211.)
- , II. Die Kautschukgruppe. In WIESNER „Die Rohstoffe des Pflanzenreichs“, Leipzig 1900, 2. Aufl., Bd. I, p. 356.
- Maellot, H., I. Anatomische Untersuchungen über das Vorkommen der Gerbstoffe. (Ber. d. Deutsch. bot. Ges. 1888, Bd. VI.)
- Molisch, H., I. Grundriß einer Histochemie der pflanzlichen Genußmittel. Jena 1891.
- , II. In WIESNER, J., Die mikroskopische Untersuchung des Papiers usw. Wien 1887. (Sonderabdr. d. Mitteil. a. d. Samml. d. Papyrus Erzherz. Rainer [1887], p. 43.)
- , III. Studien über den Milchsaft und Schleimsaft der Pflanzen. Jena 1901.
- , IV. Boltr. z. Mikroch. Nr. 1. Über einen leicht kristallisierenden Gerbstoff in *Dionaea muscipula*. (Ber. d. Deutsch. Bot. Ges., Bd. XXXIII, Jg. 1915, p. 447.)
- , V. Über einige Beobachtungen an *Mimosa pudica*. (Sitzungsber. d. Kais. Akad. d. Wiss. i. Wien, Abt. I, Bd. CXXIV, 1915, p. 507.)
- , VI. Das Chlorophyllkorn als Reduktionsorgan. (Ebenda, Bd. CXXVII, 1918, p. 440.)

- Molisch, H. u. Zeisel, S., I. Ein neues Vorkommen von Cumarin. (Ber. d. Deutsch. bot. Ges. 1888, Bd. VI, p. 353.)
- Moll, J. W., I. Eenene nieuwe mikrochemische looizuur eactive. [Maandblad voor Natuurwetenschappen 1881.] (Ref. Bot. Zbl. 1885, Bd. XXIV, p. 250.)
- Müller, J. N. C., I. Untersuchungen über die Verteilung der Harze, ätherischen Öle usw. (Jahrb. f. wiss. Bot. 1866, Bd. V, p. 387.)
- Nestler, A., I. Ein einfaches Verfahren zum Nachweis der Benzoesäure in der Preißelbeere und Moosbeere. (Ber. d. Deutsch. bot. Ges. 1900, Bd. XXVII, p. 63.)
- , II. Der direkte Nachweis des Cumarins und Theins durch Sublimation. (Ebenda 1901, Bd. XIX, p. 350.)
- Netolitzky, F., Notizen über „Inklusen“ in Gerbstoffidioblasten. (Österr. bot. Ztschr. 1914, p. 407—410.)
- Nickel, E., I. Die Farbenreaktionen der Kohlenstoffverbindungen. Berlin 1890
- Overton, I. Beitrag zur Histologie und Physiologie der Characeen. (Bot. Zbl. 1890, Bd. XLIV, p. 5.)
- Perrot, E., I. Ein neues Reagens auf äther. Öle. (L'union pharmaceutique 1891, p. 253.)
- Pfeffer, W., I. Über Aufnahme von Anilinfarben in lebenden Zellen. (Untersuch. a. d. bot. Inst. z. Tübingen. Leipzig 1886—88. Bd. II, p. 186.)
- Reinitzer, F., I. Bemerkungen zur Physiologie des Gerbstoffes. (Ber. d. Deutsch. bot. Ges. 1889, Bd. VII, p. 187.)
- Sanio, C., I. Einige Bemerkungen über den Gerbstoff und seine Verbreitung bei den Holzpflanzen. (Bot. Ztg. 1863, p. 17.)
- Schimper, A. F. W., I. Anleitung z. mikroskop. Untersuch. 1888, p. 87
- Schoenau, K. v., I. Laubmoosstudien I. (Flora 1913, N. F., Bd. V, p. 216.)
- Schulze, I. Ztschr. f. physiol. Chemie 1894, Bd. XX, p. 308.
- Schwabach, E., I. Zur Kenntnis der Harzabscheidungen in Koniferennadeln (Ber. d. Deutsch. bot. Ges. 1899, Bd. XVII, p. 295.)
- Senft, E., I. Über das Vorkommen und den Nachweis des Cumarins in der Tonkabohne. (Pharm. Praxis 1901, Jg. III, Heft 3.)
- Shirasawa, H., I. Über Entstehung und Verteilung des Kampfers im Kampferbaume. (Bull. Coll. Agric. Tokyo V [1903], p. 373, Ref. Justs. bot. Jahresber. 1910, Jg. 38, p. 1373.)
- Singer, M., I. Beiträge zur Kenntnis der Holzsubstanz usw. (Sitzungsber. d. Kais. Akad. d. Wiss. in Wien 1882, Bd. LXXXV, p. 7 d. S.)
- Solereder, H., I. Systematische Anatomie der Dikotyledonen. Stuttgart 1899, p. 245
- Sperlich, A., I. Jod, ein brauchbares mikrochem. Reagens für Gerbstoffe (Sitzungsber. d. Kais. Akad. d. Wiss. in Wien 1917, Abt. I, Bd. CXXVI, p. 103.)
- Stähelin u. Hofstetter, I. Liebigs Ann. 1844, Bd. LI, p. 63
- Tichomirov, W., I. Sur les inclusions intracellulaires du parenchyme charnu de la Datte. (Bull. d. Congr. intern. d. Bot. d. St. Petersburg 1885, p. 79.)
- , II. Sur les inclusions intracel. du parenchyme charnu de certains fruits. Datte, Kaki, Jujube etc. (Comptes rend. 1904, T. CXXXIV, p. 305 und 1907, T. CXLIII, p. 222.)
- Tschirch, A., I. Die Harze und Harzbehälter usw. Leipzig 1906, Bd. I u. II, 2. Aufl.
- , II. Angewandte Pflanzenanatomie, 1889, p. 65.
- , III. Handbuch der Pharmakognosie, Jg. 34, p. 1018.
- , IV. Die Einwände der Frau Schwabach gegen meine Theorie der Harzbildung (Ber. d. Deutsch. bot. Ges. 1901, p. 25.)

- Tschirch, A u. Shirasawa, H, I. Über die Bildung des Kampfers im Kampferbaume. (Arch. d. Pharm. 1902, Bd. CCXL, p. 257.)
- Tunmann, O, I. Über den mikrochemischen Nachweis und die Lokalisation der Juglone in Juglans regia. (Pharm Zentralhalle 1912, Jg 53, p. 1005.)
- , II Beiträge zur angewandten Pflanzenmikrochemie. (Handelsber. v Gehe & Comp., Dresden 1911, Anhang, p 155 )
- , III Über die Sekretdrüsen. Diss. Leipzig 1900.
- , IV. Beiträge zur Mikrochemie einiger Wurzelrogen (Handelsber v Gehe & Comp., Dresden 1912, p 165.)
- , V. Über Fernla Narthex Boissier, insbesondere über die Sekretgänge dieser Pflanze. (Ber. d. Deutsch. bot. Ges 1912, Jg. 30, p. 245.)
- , VI. Der Nachweis der Zimtsäure, besonders in Haizen (Pharm. Zentralhalle 1913, p. 133.)
- , VII Der mikrochem. Nachweis des Lapachols. (Apothekerztg. 1915, 30. Jg, p. 50)
- Vogl, A E. v., I. Kampfer in WIESNERS „Die Rohstoffe des Pflanzenreichs“ 1900, 2. Aufl, Bd. I, p. 548.
- Waage, Th., I Über das Vorkommen und die Rolle des Phloroglucins in der Pflanze. (Ber. d. Deutsch. bot. Ges 1890, Bd. VIII, p. 250)
- Walter, G., I. Über die braunwandigen, sklerotischen Gewebeelemente der Farne usw (Bibliotheca Botanica 1890, Heft 18)
- Wassilieff, I Landwirtschaftliche Versuchsstation 1901, Bd. LV, p. 45—77
- Weinzierl, Th. v., I. Über die Verbreitung des Phloroglucins im Pflanzenreiche (Osterr. bot. Ztschr 1876, p. 285.)
- Weselsky, P, I Zur Nachweisung des Phloroglucins und der salpetersauren Salze (Ber. d. Deutsch. chem. Ges 1875, Jg. 8, p. 967 u 1876, Jg 9, Nr 3)
- Wiesner, J, I Note über das Verhalten des Phloroglucins und einiger verwandter Körper zu verholzten Zellmembran (Sitzungsber. d. Kais. Akad. d. Wiss. in Wien 1878, Bd. LXXVII, Januarheft)
- , II Die Hanze. In: Die Rohstoffe des Pflanzenreichs 1900 2. Aufl., Bd. I, p. 130
- , III. Die technisch verwendeten Gummisorten, Harze und Balsame. Erlangen 1869
- Wigand, I Einige Satze über die physiologische Bedeutung der Gerbstoffe und der Pflanzenfarben (Bot. Ztg 1862, p. 122)
- Willstätter, R u. Stoll, A, I Untersuchungen über die Assimilation der Kohlensäure. Berlin 1918.
- Wimmer, Chr., I. Ein neuer kristallinischer Inhaltsstoff in den unterirdischen Organen von Geranium pratense L. und seine Verbreitung innerhalb der Familie der Geraniaceae (Ber. d. Deutsch. bot. Ges 1917, p. 591)
- Wisselingh, C v., I. Über den Nachweis des Gerbstoffes in der Pflanze und über seine physiologische Bedeutung (Beih. z. Bot. Zbl 1915, Bd. XXXII, I Abt, p. 155)
- Wuite, H., I Beitr. z. Kenntnis des Cumarins und der cumarinhaltigen Pflanzen. Diss. Amsterdam 1913.

## VII. Glykoside.

Zahlreiche organische Substanzen werden durch verdünnte Alkalien, Säuren, Enzyme oder durch andere Mittel meistens unter Aufnahme von Wasser derart gespalten, daß hierbei eine Zuckerart und eine oder mehrere andere, der aromatischen oder Fettkörpergruppe angehörige

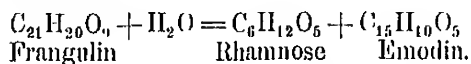
Verbindungen entstehen. Solche Körper werden als Glykoside bezeichnet. Sie werden als ätherartige Derivate der betreffenden Zuckerarten aufgefaßt. Obwohl die Zahl der bekannten, in der Pflanze vorkommenden Glykoside eine überaus große ist, so vermag man vorläufig nur die wenigsten davon im Gewebe mikrochemisch nachzuweisen. Man weist das Glykosid entweder direkt nach (Hesperidin usw.) oder man sucht, abgesehen vom Zucker, nach dem Spaltungsprodukt und schließt aus der Anwesenheit dieses auf die Muttersubstanz, d. h. auf das Glykosid (Indikan, Amygdalin usw.).

Bezüglich der Chemie der Glykoside sei besonders auf die Monographie von VAN RIJN (I) verwiesen, der bezüglich des Vorkommens der Glykoside und bezüglich der chemischen Charakteristik viele Daten entnommen wurden. Vielen Glykosiden kommt sicher im Leben der Pflanze eine große Bedeutung zu. Es war von vornherein nicht unwahrscheinlich, daß der in ihnen steckende Zucker der Ernährung dient, und in der Tat konnte WEEVERS (I) zeigen, daß das Salicin und die Glykoside der Roßkastanien Samen als Reservestoffe fungieren.

#### Frangulin, $C_{21}H_{20}O_6$ .

Dieser gelbe Farbstoff wurde in den Zweigen von *Rhamnus Frangula* L. und *Rh. cathartica* aufgefunden.

Eigenschaften. Frangulin kristallisiert in kleinen zitronengelben Nadelchen und Nadelsternen. Es ist in Wasser und kaltem Äther unlöslich, löslich in warmem Alkohol und Benzol. Alkalien und Ammoniak lösen es mit kirschroter und Schwefelsäure mit dunkelrubinroter Farbe. Verdünnte Mineralsäuren spalten Frangulin in Emodin und Rhamnose:



Nachweis. BORŠCOW (I) und CABANNES (I) benutzten die Eigenschaft des Frangulins, sich mit Ammoniak oder mit Kalilauge rot zu färben, zum mikrochemischen Nachweis. BORŠCOW fand es in den an die Markscheide anstoßenden Markzellen, in den Holzparenchymzellen der Markscheide selbst, in den dünnwandigen Elementen des Phloems und in den meisten Zellen der Phloemstrahlen.

BORŠCOW (I, 35) hat folgende Behauptung aufgestellt „Behandelt man nämlich gewisse Gewebeschichten aus der Rinde und dem Holze von *Rhamnus Frangula*, deren Zellen gelbliche Körner enthalten, mit schwacher, wässriger Jodlösung, so färben sich die Körner schmutziggelblich. Läßt man nun das Präparat eine Zeitlang liegen, oder wäscht man es tüchtig mit Wasser aus, so verschwindet allmählich die bläuliche Färbung der Körner und sie erscheinen zuletzt gelblich wie vor der Behandlung mit Jodlösung. Dieselben Körner nun, welche die blaue Jodreaktion zeigen, färben sich bei unmittelbarer Behandlung mit wässrigem Ammoniak oder besser mit Kalilösung blutrot, später braunrötlich, zeigen also die für das Frangulin charakteristische Reaktion.“ Hier liegt sicher ein Irrtum vor. Der Sachverhalt ist vielmehr der, daß die Phloemstrahlzellen das Frangulin in Form einer schwachgelblichen Masse und außerdem noch oft reichlich Stärkekörner enthalten. Diese sind an und für sich farblos und scheinen nur, weil sie an dem oder

auf dem gelblichen Zellinhalt liegen, gelblich zu sein. Die Behauptung BORŠČOWS, daß die Körner, die sich mit Jod blau färben, sich auch mit Alkalien rot färben, ist unrichtig, denn die Blaufärbung gehört den Stärkekörnern und die Rotfärbung dem Frangulin an.

Nach meinen Erfahrungen fällt die Reaktion mit Alkalien sehr verschieden aus, je nachdem man die Droge oder einen lebenden Zweig auf Frangulin untersucht. Betupft man einen Querschnitt der Rindendroge von *Rhamnus Frangula* mit Kalilauge, so färbt er sich, gleichgültig ob er mit einem Deckglas bedeckt wird oder nicht, sofort tiefrot. Ein Schnitt durch den lebenden Zweig hingegen wird unter denselben Umständen, wenn er mit einem Deckglas bedeckt und dadurch von der Luft mehr oder weniger abgesperrt wird, gelb, vielleicht abgesehen von den peripheren Markzellen und einzelnen Markstrahlzellen, die schwach rötlich werden. Derselbe Schnitt mit Kalilauge betupft und nicht mit einem Deckglas bedeckt, wird nach relativ kurzer Zeit schön rot. Das Frangulin färbt sich mit Kalilauge eben nur bei Gegenwart von Luft bzw. von Sauerstoff rot. — In der Droge ist ein großer Teil des Frangulins schon in Emodin umgesetzt, und dieses färbt sich daher mit Kalilauge sofort rot. Sublimiert man die Droge, so erhält man gelbe Tropfen, die bei der Abkühlung oft zu einem Kristallbrei erstarren, der die Emodinreaktionen gibt. Sublimiert man die lebende Rinde, so erhält man Tröpfchen, die mit Alkalien keine oder eine kaum angedeutete Rotfärbung geben, weil in der lebenden Rinde Emodin noch nicht abgespalten ist und Frangulin nicht sublimiert.

Unter Beachtung der angegebenen Tatsachen kann man leicht feststellen, daß das Frangulin in der lebenden Pflanze in den peripheren Markzellen, in den Markstrahlen des Holzes und ganz besonders in den Phloemstrahlen seinen Sitz hat.

### Hesperidin, $C_{50}H_{60}O_{27}$ ,

ist ein in der Familie der Rutaceen ziemlich verbreitetes Glykosid. Es wurde nachgewiesen im Fruchtfleisch der reifen und unreifen Früchte von *Citrus aurantium* R., *C. Limonum* R., *C. Limetta* R., *C. vulgaris* v. *curassaviensis*, *C. chinensis*, *C. longifolia* und *C. mandarin*, in den Blättern und Zweigen von *C. aurantium*, verschiedenen *Diosma*-, *Baobab*-Arten und anderen Pflanzen. Hingegen fehlt es in *C. decumana*, *C. Bigaradia* und *C. vulgaris*. Es kommt auch bei Umbelliferen, ferner nach TUNMANN (VII) bei *Hyssopus officinalis*, nach TSCHEUCH (I) bei *Mentha piperita* und nach ALBERTUS (I) bei etwa 20 Arten der Labiaten in der Unterfamilie der Stachyoideen vor. BRUNSWIK (I) untersuchte etwa 50 Lippenblütler, darunter 8 Arten von *Mentha* und 7 Arten von *Satureja* und fand bei *Mentha pulegium* und *M. longifolia* viel Hesperidin, während bei *M. spicata*, *aquatica*, *verticillata*, *arvensis* davon nichts zu finden war. Von den untersuchten *Satureja*-Arten erwies sich nur *S. acinos* (*Calamintha acinos*) als hesperidinhaltig. — Die in den Laubblättern von *Scrophularia nodosa* vorkommenden Sphärökrystalle, die VOGEL (I) zuerst beobachtete und vermutungsweise als Hesperidin ansprach, haben sich nach BRUNSWIK (I) tatsächlich als Hesperidin im Sinne TUNMANN'S (IV) erwiesen. Dieser Forscher hat alle jene Körper, die die hauptsächlichsten Hesperidinreaktionen geben und für die eine chemische Analyse noch nicht vorliegt, zu der Gruppe der Hesperidine zusammengefaßt. So aufgefaßt, ist auch jener Körper hierher zu stellen, den MOLISCH (III) in der Oberhaut von *Linaria genistifolia* und zwei anderen *Linaria*-Arten (*L. bipartita* und *L. reticulata*) entdeckt hat.

BORODIN (I) hat etwa 3000 Pflanzen auf Hesperidin geprüft, und es ist zweifellos, daß viele der von ihm festgestellten kristallisierten Ausscheidungen in die Gruppe der Hesperidine einzuordnen sind.

Abgesehen von den schon genannten Gattungen und Familien ist Hesperidin noch in der Familie der Lobeliaceen, Valerianaceen, Lythraceen, Compositen, Papilionaceen und Rubiaceen festgestellt worden. In der Familie der Rubiaceen konnte KLEIN Hesperidin feststellen. Hier findet es sich nur in der Gattung *Galium*; und zwar auf den zusammenhängenden Artenkreis von *G. rubrum*, *aristatum*, *Schultesii*, *lucidum*, *cinereum* und *mollugo* beschränkt. Die Arten *Schultesii*, *lucidum*, *moliodorum* und *cinereum* enthalten Hesperidin konstant in jedem Exemplar, die beiden ersten und die letzte Art wechselnd. Bei vielen Varietäten von *Galium mollugo* läßt sich, unabhängig vom Klima, Standort und Alter, Hesperidin bald nachweisen, bald nicht; hier handelt es sich nach KLEIN (I) um systematisch nicht mehr greifbare chemische Rassen, die durch das Vorhandensein oder Fehlen des genannten Glykosids ausgezeichnet sind.

Bei Monokotylen ist Hesperidin äußerst selten; BORODIN fand es nur bei Gräsern und Halbgräsern, und BRUNSWIK (II) fand es jüngst bei *Anthurium Binotii*

Linden im gesamten oberirdischen Hautgewebe, und zwar in derartiger Konzentration, daß es in den lebenden Zellen junger Pflanzenteile schon in Sphärökristallen ausgeschieden vorlag.

Bezüglich der Verbreitung des Hesperidins innerhalb einer Familie oder Gattung hat sich das interessante Ergebnis gezeigt, daß das Vorkommen kein geschlossenes, sondern ein sehr sprunghaftes ist, so daß nur einige wenige Vertreter diesen Körper enthalten, wie wir z. B. an der Familie der Labiaten, Rubiaceen und Scrophularineen sehen

**Eigenschaften.** Bildet aus Alkohol weiße, geruch- und geschmacklose Nadeln. Fast unlöslich in kaltem, schwer in heißem Wasser, etwas leichter löslich in Alkohol und heißem Eisessig, hingegen unlöslich in Benzol, Chloroform und Äther. — Ammoniak, verdünnte Alkalien

und alkalische Erden lösen Hesperidin leicht, die Lösung wird bald gelb bis orange. Auch konzentrierte Schwefelsäure löst mit gelber Farbe. Wird Hesperidin mit etwas verdünnter Kalilauge verdampft und der Rückstand mit verdünnter Schwefelsäure erwärmt, so entstehen rote bis violette Farbtöne. Beim Erhitzen mit verdünnter Schwefelsäure wird es in Rhamnose, Glukose und Hesperetin gespalten.

**Mikrochemie.** Das Hesperidin kommt in der lebenden Zelle meist in gelöster Form vor. Wenn man reife oder unreife Apfelsinen (*Citrus Aurantium* Risso) längere Zeit in absolutem Alkohol liegen läßt, so scheidet sich, wie PRERER (I) gezeigt hat, das Hesperidin in Form von Sphärökristallen ab. Dasselbe kann man beim Einlegen von Fruchtstücken in Glycerin beobachten, doch sind die Sphärökristalle hier weniger schön. Auch beim Eintrocknen der Apfelsinen kristallisiert das Hesperidin häufig in Form von Nadeln oder unvollkommenen Sphäriten heraus. Das Auskristallisieren des Glykosids in Alkohol voll-

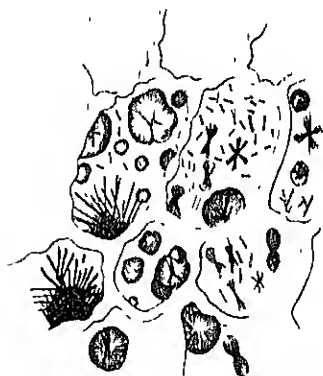


Fig. 61.  
Hesperidin-Kristalle  
im Fruchtschalenparenchym der  
Zitrone Veigr. 180

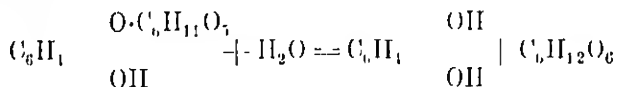
zieht sich langsam, man muß lange warten. Will man rasch zum Ziele kommen, dann empfehle ich folgendes Verfahren: Man nehme eine kälufliche Zitronen- oder Orangenfrucht, schneide sie quer durch und lege die Hälften mit der Schnittfläche nach oben einfach hin. Schon nach  $\frac{1}{4}$  bis  $\frac{1}{2}$  Stunde bilden sich an der quer durchschnittenen Fruchtschale Nadeln, Nadelsterne, Doppelpinsel und Sphärökrystalle von Hesperidin (Fig. 64). Man sollte meinen, daß man durch Verdampfenlassen eines ausgepreßten Tropfens zu demselben Ziele gelangen würde. Das ist aber nicht der Fall. Man erhält zwar mitunter auch Nadelchen und Pinselchen, aber nicht so regelmäßig und so reichlich wie bei der Transpiration der Fruchtschale. Offenbar sind hier die Kristallisationsbedingungen günstiger, schon deshalb, weil aus den unter der Schnittfläche liegenden Zellen immer neues Hesperidin nachrücken kann.

Die in dem Gewebe abgeschiedenen Hesperidinkristalle zeigen die für das reine Hesperidin erwähnten Löslichkeitsverhältnisse. Bemerkenswert ist ihre leichte Löslichkeit in wässerigen und alkoholischen Alkalien mit gelber Farbe und ihre schwere Löslichkeit in Wasser, wodurch sie sich von den äußerlich ähnlichen Inulinsphäriten unterscheiden. Die Hesperidinkristalle sind doppelbrechend, und die Sphärite verhalten sich im polarisierten Lichte ganz ähnlich wie die des Inulins. Das Hesperidin tritt nach PREFFER nicht bloß in den Früchten auf, sondern auch in allen Achsen (Mark und Rinde), Blattorganen und der Blüte der Apfelsine. Im Fruchtknoten der Blütenknospe und in den unreifen Früchten ist es besonders reichlich. In der Frucht enthalten es alle parenchymatischen Zellen des Fruchtfleisches und der Pulpa.

#### Arbutin (Hydrochmonglukosid), $C_{12}H_{16}O_7$

Vorkommen Ein bei Ericaceen und Prolaceen weit verbreitetes Glykosid. Es wurde gewonnen aus *Pirola umbellata*, *P. rotundifolia*, *P. chlorantha*, *P. elliptica*, *Calluna vulgaris*, *Ledum palustre*, aus *Vaccinium*-Arten, *Epigaea repens*, *Gaultheria procumbens*, *Arctostaphylos glauca* und *Chimaphila maculata*. Auch im Birnbaum, besonders in der Rinde, wurde Arbutin gefunden. WEEVERS (I u. II) hält es für einen Reservestoff.

Eigenschaften Arbutin kristallisiert aus Lösungen in langen, feinen, bitterschmeckenden Nadeln und Prismen, die in Äther und kaltem Wasser wenig, in Alkohol und heißem Wasser leicht löslich sind. Durch verdünnte Säuren und Emulsin wird es in Glykose und Hydrochinon gespalten.



Mikrosublimation. Das Arbutin läßt sich direkt nicht gut sublimieren, wohl aber, wie TUNMANN (III) gezeigt hat, sein Spaltungsprodukt, das Hydrochinon. „Das zu untersuchende Pflanzenmaterial wird möglichst gepulvert. Das Pulver wird auf dem Objektträger mit 2 bis 3 Tropfen verdünnter Salzsäure (1:10) mit einem Glasstabe vermischt und einige Minuten liegen gelassen. Alsdann bringt man



das Gemisch auf eine Asbestplatte, legt einen zweiten Objektträger in 3 mm Abstand als Rezipienten auf und sublimiert. Bei einer 10 mm hohen Spiritusflamme und bei 50 mm Abstand des Objektes von der Flammbasis lassen sich innerhalb 5 Minuten aus 0,03 bis 0,05 g Substanz 3—4 kristallinische Sublimate erzielen“ (TUNMANN III, 315). Hydrochinon ist bekanntlich dimorph. Man erhält aus Lösungen hexagonale Prismen, bei der Sublimation kleine monokline Blättchen. Bei der Sublimation können aber auch beide Kristallformen auftreten: Prismen, monokline Blättchen, x-förmige Kristallskelette, tannenbaumartige Gebilde und andere. Durch Anhauchen verschwinden sie momentan. Sie lösen sich leicht in Wasser, Alkohol, Äther, Anilin, Aceton und Ammoniak, nicht in Benzol. Verdünntes Eisenchlorid löst die Kristalle vorübergehend mit schwarzer Farbe. Die Lösung erscheint über einem weißen Grund grünlich. Charakteristisch ist das Verhalten der Hydrochinonkristalle zu Ammoniak. Sie nehmen darin sofort oder nach einer Stunde eine rotbraune Färbung an. Beim Verdampfen des Tröpfchens scheiden sich Kristalle aus: farblose oder gelbliche Prismen und x-förmige Kristalle.

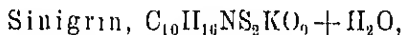
Auf die geschilderte Weise erhielt TUNMANN durch Mikrosublimation Hydrochinonkristalle aus den Blättern von *Arctostaphylos Uva ursi*, *Vaccinium Myrtillus*, *Kalmia angustifolia* und *Pirola rotundifolia*.

Der vorliegende Fall zeigt, daß auch die Kombination von Hydrolyse und Mikrosublimation der Mikrochemie gute Dienste leisten kann.

Verdünnte Salpetersäure färbt arbutinhaltige Zellen sofort dunkelorange bis dunkelrotbraun. Die Farbe verwandelt sich alsbald in leuchtend Gelb bis Chromgelb (TUNMANN V).

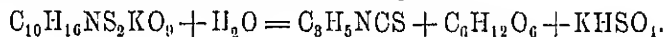
### Senfölglykoside.

In den Samen und vegetativen Organen zahlreicher Cruciferen und ihrer nächsten Verwandten, der Resedaceen, Capparideen, Tropaeolaceen und anderer wurden Glykoside gefunden, die durch Spaltung oft stark riechende, die Schleimhäute reizende, schwefelhaltige Stoffe, die Senföle, liefern. Die Muttersubstanzen dieser Öle können als Senfölglykoside oder Glykosenöle bezeichnet werden. Hierher gehören das Sinigrin, Sinalbin, Glykotropäolin, Glykonasturtin und andere.



oder myrionsaures Kali ist das Glykosid des schwarzen Senfsamens *Brassica nigra*. In kleiner Menge kommt es auch in den Samen von *Brassica Napus*, *Br. Rapa*, *Sinapis juncea* und in der Wurzel von *Cochlearia Armoracia* vor. Hingegen fehlt es in den Samen des weißen Senfes *Sinapis alba*.

Eigenschaften. Sinigrin kristallisiert aus Wasser in kurzen rhombischen Prismen, aus Alkohol in glänzend weißen derben Nadeln. Ist in Wasser leicht löslich, schwer in kaltem, leichter in heißem Alkohol, unlöslich in Äther, Chloroform und Benzol. Durch das bei den Cruciferen so häufig vorkommende Ferment Myrosin wird es in Allylsenföhl, d-Glukose und Kaliumbisulfat gespalten:



In der Mehrzahl der Cruciferen finden sich nach HEINRICHER (I) besondere Zellen oder Idioblasten, die er, da sich ihr Inhalt mit MILLONS Reagens rot färbte und auch sonst Eigenschaften der Eiweißkörper zeigte, als Eiweißschläuche bezeichnete. Später hat GUIGNARD (I) diese Zellen genauer studiert und ihre wahre Natur als Myrosinbehälter erkannt. Diese Idioblasten sind also der Sitz des das Sinigrin spaltenden Fermentes.

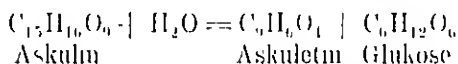
Den mikrochemischen Nachweis des Sinigrins bzw. seines Spaltungsproduktes, des Senföls, versucht GUIGNARD (I) in folgender Weise. Frische Schnitte durch die Rettichwurzel werden in absoluten Alkohol eingelegt. Der Alkohol entzieht das Fett (?) und macht das vorhandene Ferment fast ganz unwirksam. Nun legt man die Schnitte in eine Myrosinlösung, d. h. in einen wässerigen Auszug aus den Samen des weißen Senfes (*Sinapis alba*). Hier wird das Sinigrin gespalten. Senföl entsteht, und dieses läßt sich mittels einer schwach alkoholischen Alkannalösung rot färben. Man sieht dann in allen Zellen des Rinden-, Bast- und Holzparenchyms, besonders aber in dem der Rinde überall die nun rotgefärbten Tröpfchen des Senföls, aus dessen Anwesenheit GUIGNARD auf die Muttersubstanz, auf das Sinigrin zurückschließt. Das Myronat dürfte daher im Parenchym diffus verteilt sein.



Wurde bis jetzt nur nachgewiesen in *Aesculus Hippocastanum* (Rinde) und in *Himenodictum excelsum* Wallach (Rinde). In den Knollen der Jalape, *Exogonium purga*, kommt es als  $\beta$ -Methyläskulin, wahrscheinlich in den Sekretzellen vor.

Eigenschaften Kristallisiert aus Wasser und verdünntem Alkohol in kleinen, oft kugelig gruppierten Prismen. Es ist kaum löslich in absolutem Äther, leicht in Eisessig, heißem Alkohol und langsam in Wasser. Die wässrige Lösung zeigt eine schöne blaue Fluoreszenz.

die noch bei einer Verdünnung von  $\frac{1}{15 \cdot 10^6}$  zu beobachten ist. Säuren heben die Fluoreszenz auf, Alkalien verstärken sie. Durch Erhitzen mit verdünnten Mineralsäuren wird Äskulin gespalten in Äskuletin und Glykose:



Nachweis. TUNMANN (I) hat den Versuch gemacht, das Äskulin nachzuweisen, und zwar durch

Sublimation. Die Wurzelrinde von *Aesculus Hippocastanum* gab keine kristallinischen Sublimate. Nur wenn 0,3 g Rindenpulver aus der Frühjahrsrinde auf einmal der Sublimation unterworfen wurden, konnte er im Sublimat farblose Prismen gewinnen. TUNMANN sagt selbst, daß der Ausfall der Sublimation unbefriedigend ist, und ich kann diese Bemerkung auf Grund eigener Erfahrungen bestätigen.

Hingegen will TUNMANN mit der Droge von *Gelsemium semper-virens* Mich. (*Rhizoma Gelsemii*) vorzügliche Resultate erhalten haben. Schnitte sowohl des Holzes als auch der Rinde von nur wenigen Zentigrammen liefern schon mehrere starke Sublimate, die fast nur aus Kristallen bestehen. Die Sublimation soll nach TUNMANN schon bei

etwa 40° beginnen und bei 58 bis 60° in ausgiebiger Weise verlaufen. Höhere Temperaturen sind zu vermeiden, weil die Sublimata dann gelb und verunreinigt sind. Die Kristalle stellen farblose Prismen, Säulen und Stäbchen mit rechtwinklig abgestutzten Endflächen dar; bei höherer Temperatur gewonnene Sublimata enthalten auch Büschel und Garben. Sie zeigen nach TUNMANN angeblich die Eigenschaften des Askulins, und ihre wässrige Lösung gibt eine blaugrüne Fluoreszenz zu erkennen, wenn man abwechselnd über einer weißen und schwarzen Unterlage im direkten Sonnenlichte beobachtet.

TUTIN (I) hat sich gegen die Ergebnisse von TUNMANN gewendet, indem er zeigt, daß es sich bei den Experimenten mit Gelsemium nicht um Askulin, sondern um Skopoletin (Methylaskuletin) handelt. In der chemischen Literatur wird angegeben, daß das Askulin sein Kristallwasser bei etwa 130° verliert, bei 160° schmilzt und bei 230° in Askuletin und Dextrose zerfällt. Nach TUNMANN aber soll Askulin bei der Mikrosublimation schon bei 49 bis 50° schmelzen und schon bei 40° bzw. bei 58 bis 60° sublimieren. TUTIN findet es schwer begreiflich, daß ein Körper sich bei der Mikrosublimation anders verhalten soll als bei gewöhnlicher Behandlung, und überdies habe TUNMANN übersehen, daß Gelsemium gar kein Askulin enthalte. Das blau fluoreszierende Prinzip in Gelsemium ist Skopoletin und nicht Askulin, denn die Angabe, daß Gelsemium dieses Glykosid führt, ist bereits widerlegt.

Gelsemium liefert nach TUTIN ein geringes Sublimat, das größtenteils aus Kristallen von Skopoletin besteht. Hingegen erhielt er bei der Sublimation von Askulin eine teerige Masse ohne Kristalle oder mit Kristallen von Askuletin.

Nach dieser Sachlage muß man wohl sagen, daß der Nachweis des Askulins durch Mikrosublimation aus den Geweben der Pflanze bisher nicht gelungen ist, und mit Rücksicht auf die Arbeit von TUTIN wird es verständlich, warum man mit der Roßkastanienrinde, die doch relativ viel Askulin führt, kein Askulinsublimat erhält.

Auf nassem Wege läßt sich Askulin nach TUNMANN (VI) mit einer Bromkaliumlösung, in der 10% Brom gelöst wurden, nachweisen. Werden Schnitte mehrere Stunden unter dem Deckglas darin belassen, so entstehen die farblosen Nadelchen des Dibromaskulins. —

Zum mikrochemischen Nachweis des Askulins kann auch seine blaue Fluoreszenz mit Vorteil herangezogen werden, da die Fluoreszenz schon durch Einlegen kleiner Schnitte in einen Wassertropfen im direkten Sonnenlichte (vgl. p. 32) zutage tritt, zumal wenn man den Tropfen einen Moment über den Hals einer Ammoniakflasche hält, um die Fluoreszenz zu steigern. Die Fluoreszenz allein beweist natürlich noch nichts, da ja auch andere mit Askulin verwandte Körper (Skopoletin, Askuletin und Praxin) dieselbe oder eine ähnliche Fluoreszenz zeigen.

Mit dem Nachweis des Askulins in Roßkastanienkeimlingen auf Grund der Fluoreszenz hat sich WEEVERS (1, 247) beschäftigt. In ungekeimten Samen ist es sporadisch in der Plumula vorhanden. Läßt man die Keimpflanze sich bis zu einem vierblättrigen Stadium entwickeln, so ist die Lokalisierung dieses Glykosids folgende:

	Normale Keimpflanzen	Etiolierte Keimpflanzen
Kotylon . . . . .	—	—
Kotylstiele . . . . .	+	+
Stengelrinde . . . . .	+	+
Blattstiele . . . . .	+	—
Blätter . . . . .	—	—
Hypokotyls Internodium .	+	+
Wurzel . . . . .	—	—

+ bedeutet Askulin anwesend, — bedeutet kein Askulin.

Zum Nachweis wurden die Teile mit Wasser extrahiert, der Extrakt mit Bleiacetat und Natriumphosphat zur Entfärbung und Klärung versetzt. Es konnte dann die Fluoreszenz auch bei Spuren beobachtet werden. Das Licht ist für die Entstehung des Askulins, wie die Tabelle lehrt, unnötig (WEEVERS I, 248).

#### Coriamyrtin, $C_{15}H_{18}O_7$ (?)

ist ein in den Blättern, Trieben und Früchten von *Coriaria myrtifolia* L. vorkommendes giftiges Glykosid. Es kristallisiert in farblosen, monoklinen Prismen, löst sich leicht in heißem Alkohol und Äther, schwer in kaltem Wasser und kaltem Alkohol. Beim Kochen mit verdünnter Salzsäure wird es gespalten. Dabei entstehen Zucker und wenigstens zwei andere Zersetzungsprodukte, von denen das eine in gelben Flocken ausfällt.

Nachweis. HANAUSEK (II) gelang es, mit der Jodwasserstoffnatronprobe das Coriamyrtin mikrochemisch nachzuweisen. Man legt zu diesem Zwecke ein Blattpartikel oder einen Querschnitt in eine alte, Jodwasserstoffsäure enthaltende Jodjodkaliumlösung ein. Darauf entsteht in den Zellen ein schwarzer Niederschlag, und das Objekt wird hierdurch ganz schwarz. Saugt man dann die Jodlösung ab und läßt gleichzeitig starken Alkohol zufließen, so erfolgt eine Aufhellung des Präparates, der Niederschlag löst sich auf und das Objekt wird wieder grün. Wird nun Natronlauge hinzugesetzt, so tritt augenblicklich eine purpurviolette Färbung auf, aus dem Objekte scheiden sich tiefrote Körnchen ab, und nach 10 bis 15 Minuten, rascher nach Hinzufügen von Wasser, verschwindet die auffallende Färbung, und gleichzeitig bleibt ein gelber Niederschlag zurück. Mit Hilfe dieser Reaktion zeigte HANAUSEK, daß das Coriamyrtin in allen Teilen des Mesophylls vorhanden ist, aber nicht in den Gefäßbündeln.

#### Salicin, $C_{13}H_{16}O_6$ ,

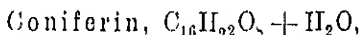
kommt hauptsächlich in der Rinde zahlreicher Salix- und Populusarten vor, so in *Salix Helix* L., *S. alba* L., *S. fragilis* L., *S. amygdalina*, *S. purpurea* L., *Populus tremula*, *P. balsamifera* und anderen, hingegen scheint es nicht in *S. babylonica*, *S. caprea* L., *S. viminalis* L., *Populus nigra* L. und *P. monilifera* aufzutreten. Salicin findet sich aber nicht bloß in der Rinde, sondern auch in den Blättern, den weiblichen Blüten der erwähnten Weiden und in den Knospen von *Populus nigra* L.,

*P. pyramidalis* und *P. monilifera* Ait. Die Blütenknospen von *Spiraea ulmaria* L. führen diesen Stoff gleichfalls (VAN RIJN I, 144).

**Eigenschaften.** Salicin kristallisiert in weißen, glänzenden Nadeln, Blättchen oder rhombischen Prismen von stark bitterem Geschmack. Leicht löslich in heißem Wasser, weniger in Alkohol, unlöslich in Äther. Konzentrierte Schwefelsäure löst Salicin mit intensiv roter Farbe. Aus dieser Lösung scheidet sich mit Wasser ein roter Niederschlag ab, der in Wasser, aber nicht in verdünnter Schwefelsäure löslich ist.

**Mikrochemischer Nachweis.** Von mehreren Seiten wurde der Versuch gemacht, die Rotfärbung mit Schwefelsäure heranzuziehen, um das Salicin in der Zelle nachzuweisen. Nach RACZINSKI (I) werden die Wände der Markstrahl-, Bast- und Holzzellen mit konzentrierter Schwefelsäure rot, und daraus schloß er auf Salicin. Dem wurde von BOGUSLAWSKY (I), da er die Rotfärbung nicht erhielt, widersprochen, und um diesen Widerspruch zu lösen, wiederholte BABIKOFF (I) die Versuche. Mit konzentrierter Schwefelsäure erhielt er keine Rotfärbung in den Geweben, wohl aber erhielt er mit verdünnter Schwefelsäure dieselben Resultate wie RACZINSKI. Da BABIKOFF mit verdünnter Schwefelsäure und reinem Salicin keine Rotfärbung bekam, so schloß er, daß in den genannten Geweben der Weiden kein Salicin, sondern ein anderer Körper die Rotfärbung hervorruft, und dies erschien ihm um so sicherer, als dieselbe Färbung auch auftrat in Pflanzen, die sicher kein Salicin enthielten. Die Rotfärbung, die mit verdünnter Schwefelsäure in Schnitten der Weidenzweige zutage tritt, erscheint auch nach Behandlung mit Salzsäure und wird meiner Meinung nach durch die Holzstoffreaktion, die durch das im Gewebe vorkommende Phloroglucin bedingt wird, hervorgerufen (vgl. p. 147).

Auch THEORIN (I) und ROSOLL (I) glaubten die Reaktion mit Schwefelsäure zum mikrochemischen Nachweis des Salicins empfehlen zu können, allein die Bedenken, die WEEVERS (I, 232) gegen die Methodik THEORINS geltend machte, sind vollauf berechtigt. Es ist somit derzeit nicht möglich, Salicin mikrochemisch direkt im Gewebe nachzuweisen, und dasselbe gilt auch von Populin, welches mit konzentrierter Schwefelsäure eine ähnliche Reaktion gibt wie Salicin.



ein im Kambialsaft verschiedener Coniferen (*Abies excelsa*, *A. pectinata*, *Pinus Strobus*, *Larix europaea* usw.) vorkommendes Glykosid.

**Eigenschaften.** Weiße atlasglänzende Nadeln. Schwer löslich in kaltem Wasser, leicht in heißem, wenig in starkem Alkohol, unlöslich in Äther. In konzentrierter Schwefelsäure mit dunkelvioletter, allmählich in Rot übergehender Farbe löslich. Mit Phenol und konzentrierter Salzsäure benetzt, gibt Coniferin im Sonnenlicht eine intensiv blaue Farbe.

#### Nachweis.

Es ist auffallend, daß der mikrochemische Nachweis des Coniferins im Kambium der Coniferen bisher noch nicht geglückt ist. Hingegen wurde durch HÖHNEL (I), SINGER (I, 352) die allgemeine Verbreitung dieses Glykosids in den verholzten Geweben der Pflanze mittels der

Phenolsalzsäurereaktion sehr wahrscheinlich gemacht. Dieselben Dienste leistet für den Coniferinnachweis das von MOLISCH (II, 301) aufgefundene

Thymolreagens. Eine 20proz. Thymollösung in absolutem Alkohol wird so lange mit Wasser verdünnt, als die Flüssigkeit vollkommen klar bleibt, d. h. kein Thymol herausfällt. Hierauf wird festes Kaliumchlorat im Überschuß hinzugesetzt, mehrere Stunden stehen gelassen und filtriert. Wird mit diesem Reagens Holzstoffpapier oder ein verholztes Gewebe benetzt und hierauf ein Tröpfchen konzentrierte Salzsäure hinzugesetzt, so färbt sich die benetzte Stelle selbst in tiefster Finsternis alsbald schön blaugrün. Jede verholzte Zellhaut und nur diese färben sich mit diesem Reagens in der angegebenen Weise, und hierin liegt eine Stütze der schon von HÖHNEL, SINGER und in neuester Zeit auch von GRAFE vertretenen Ansicht, wonach das Coniferin als ein konstanter Bestandteil des Lignins zu betrachten sei.

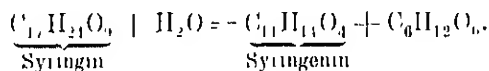
Die Phenolsalzsäure-Reaktion wird gleichfalls durch einen Zusatz von Kaliumchlorat empfindlicher gemacht. Ich verwende eine gesättigte wässrige Phenollösung und versetze mit so viel Kaliumchlorat als sich darin auflöst. Das Thymolreagens ist vorzuziehen, da die Färbungen schöner und haltbarer sind.

### Syringin, $C_{17}H_{24}O_9$ .

#### Vorkommen.

Namentlich in der Rinde, aber auch in den Blättern von *Syringa vulgaris*, *Ligustrum vulgare* und anderen *Ligustrum*-Arten, ferner in *Robinia Pseudacacia*, *Jasminum nudiflorum* und *J. fruticosum*.

Eigenschaften. Bildet lange, weiße, geschmacklose Nadeln. Leicht löslich in heißem Wasser und Alkohol, aber nicht in Äther. Die alkoholische oder wässrige Lösung wird beim Vermischen mit dem gleichen Volum Schwefelsäure dunkelblau und bei weiterem Zusatz von Schwefelsäure violett. Salpetersäure löst mit blutroter Farbe. Mit verdünnten Mineralsäuren wird Syringin in Syringenin und Glukose gespalten



Nachweis. Von diesen Eigenschaften hat BORČOW (1) die Reaktion mit Schwefelsäure benutzt, um das Syringin im Gewebe nachzuweisen. Er behandelt Schnitte der Zweige von *Syringa vulgaris* mit mäßig konzentrierter Schwefelsäure (1 Teil Schwefelsäure und 2 Teile Wasser). Es färben sich dann alsbald sämtliche Zellhäute der Holz-, Bast- und Markstrahlzellen gelbgrün, nach wenigen Minuten blau oder bläulich und später violettrot. Verwendet man eine verdünntere Säure (1:5), so tritt die Reaktion oft erst nach 2 bis 3 Stunden ein. Reine Schwefelsäure ist nicht zu empfehlen, da die Reaktion zwar rasch erscheint, das Gewebe aber zerstört wird. Das Syringin kommt nach BORČOW ausschließlich in den Zellhäuten vor, und zwar in den dickwandigen Elementen des Phloems, des Holzes und der Holzmarkstrahlen.

Ich habe diese von BORČOW gemachten Angaben nachgeprüft, bin aber dabei zu keinen befriedigenden Resultaten gekommen. Wenn ich die empfohlene verdünnte Schwefelsäure (1:2) verwendete, so trat

die Reaktion entweder gar nicht ein, oder es färbten sich fast nur die Bastzellen gelbgrün bis blaugrün. Wurde die Schwefelsäure in reiner oder konzentrierterer Form einwirken gelassen, so trat zunächst eine blaugrüne Färbung des chlorophyllführenden Rindenparenchyms ein, diese Reaktion rührt aber, wenigstens größtenteils, von dem Carotin der Chlorophyllkörner her. Die Bast-, Holz- und Markstrahlzellen werden unter hochgradiger Aufquellung fast sofort desorganisiert und nehmen einen braunroten Farbenton an. Außerdem kann namentlich im Kambium eine violette Färbung auftreten, die von Syringin herrühren, aber ebensogut als RASPAILSche Reaktion des Plasmaeiweißes gedeutet werden kann. Ich möchte daher davor warnen, aus diesen Färbungen Schlüsse auf die Anwesenheit von Syringin zu ziehen, wie es BORČŠOW getan hat. Dasselbe gilt auch von den Angaben SCHIELLS (I). Der Syringin-gehalt ist zu verschiedenen Zeiten nicht gleich. Obwohl ich die Syringarinde im Frühjahr und im Herbst prüfte, konnte ich im Ausfall der mikroskopischen Färbungen keinen wesentlichen Unterschied finden.

Nicht unerwähnt bleibe, daß die Bastzellmembranen von *Syringa* mit konzentrierter Salzsäure eine intensiv grüne Farbe annehmen und daß die Rinde der *Syringa vulgaris* und *Ligustrum vulgare* bei der Sublimation farblose oder bräunliche Tröpfchen liefert, die mit konzentrierter Schwefelsäure eine rotviolette Färbung zeigen.



ist ein in der Wurzel der Papilionacee *Baptisia tinctoria* vorkommendes Glykosid. Es läßt sich nach TUNMANN (VIII) mikrochemisch nachweisen 1. durch Farbenreaktionen, 2. durch Abscheidung von Baptisin-kristallen aus Schnitten am Deckglasrand und 3. durch Mikrosublimation

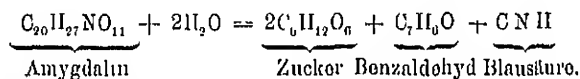
ad 1. Baptisin gibt mit Cer- und WOLFRAM-Schwefelsäure eine rotviolette Färbung.

ad 2. Kocht man mehrere Schnitte unter Deckglas in Essigsäure, so scheiden sich nach dem Eindunsten der Flüssigkeit hellgelbe Sphärite des Baptisins aus.

ad 3. Das Wurzelpulver liefert bei der Sublimation zuerst nur farblose oder schwach gelbliche, stark polarisierende, aus Nadeln bestehende Drusen von Baptisin. Später erscheinen die Zerrformen der Zersetzungprodukte.

Amygdalin und verwandte, Blausäure liefernde Glykoside.

Verbreitung In den Samen der bitteren Mandeln, *Amygdalus communis*, in denen von verschiedenen *Prunus*-Arten, *Persica vulgaris*, *Pirus malus*, *Cydonia vulgaris*, *Sorbus aucuparia*, *Cotoneaster vulgaris*, *Crataegus oxyacantha* und *Mespilus japonica* wurde kristallisierbares Amygdalin gefunden. Es wird durch ein in den Amygdalinpflanzen gleichfalls häufig vorkommendes Ferment, das Emulsin, oder durch heiße verdünnte Säuren in Zucker, Benzaldehyd und Blausäure nach der Gleichung gespalten



In den Blättern von *Prunus Laurocerasus* L. und in der Rinde von *Prunus Padus* kommt ein amorphes Amygdalin, Laurocerasin genannt, vor, das durch Emulsin dieselbe Spaltung erleidet

In letzter Zeit haben die Untersuchungen verschiedener Forscher eine ganze Reihe von Blausäure abspaltenden Glykosiden kennen gelehrt, die in den verschiedensten Abteilungen des Pflanzenreiches auftreten. So das Prulaurasin in den Blättern von *Prunus Laureocerasus* und in den Zweigen von *Cotoneaster microphylla*, das Sambunigrin in den Blättern von *Sambucus nigra* und in *Ribes rubrum*, das Dhurarin in jungen Pflanzen von *Sorghum vulgare* und *Panicum*-Arten, das Linamarin in den Samen der gefärbten Bohnen, der wilden Pflanzen von *Phaseolus lunatus*, in *Linum usitatissimum*, *Manihot Aipi* und *M. utilisima*, in der Komposite *Dimorphotheca* und vermutlich auch in *Thalictrum aquilegifolium*. Damit ist nur ein kleiner Bruchteil Blausäure liefernder Pflanzen erwähnt, konnte doch schon 1919 GIESHOF (I) 84 phanerogame Gattungen namhaft machen, die Blausäure enthalten. In 16 Gattungen wird die Cyanwasserstoffsäure von Azeton begleitet und in 43 von Benzaldehyd. In den übrigen Fällen sind die begleitenden Substanzen unbekannt.

Im Jahre 1919 konnte ROSENTHALER (I) bereits eine Liste von rund 360 Arten von Blausäurepflanzen mit 148 Gattungen und 41 Familien verzeichnen. Die größte Zahl dieser Pflanzen findet sich bei den Rosaceen mit über 80; ihnen gesellen sich die Gramineen mit über 40, die Araceen mit 31, die Passiflorene mit 26, die Leguminosen mit 21 und die Ranunculaceen, Euphorbiaceen und Flacourtiaceen mit je 12 blausäurehaltigen Arten.

Kurzlich hat BRUNSWIK (II) mit Hilfe neuer Reaktionen 41 neue Blausäurepflanzen gefunden 12 *Ribes*-Arten, 5 *Crataegus*-Arten, 11 Araceen und 10 Arten aus verschiedenen Pflanzenfamilien.

Das Amygdalin und die verwandten Glykoside direkt im Gewebe nachzuweisen, ist bisher nicht gelungen, wohl aber vermag man ihr Spaltungsprodukt, die Cyanwasserstoffsäure, durch bestimmte Reaktionen zu erkennen. Diese Reaktionen sind die beiden folgenden:

#### Mikrochemischer Nachweis.

1. Die Berlinerblauprobe. TREUB (I, II) hat das Verdienst, diese Probe zuerst für den Nachweis der Blausäure in den Geweben der Pflanze herangezogen und adaptiert zu haben.

Zur Durchführung der Reaktion kommen nacheinander folgende drei Lösungen zur Anwendung

a) Die Kalilauge. Man fügt zu 20 Volumteilen einer 20proz. wässrigen Kaliumhydroxydlösung 80 Volumteile etwa 90proz. Alkohols. Die Lösung darf nur kalt angewendet, und die zu untersuchenden Objekte (Schnitte, Blattfragmente usw.) dürfen nur einen Augenblick in die Lösung getaucht werden.

β) Die Eisenlösung. Eine 2,5proz. wässrige Ferrosulfatlösung mit einer 20proz. wässrigen Ferrichloridlösung wird zu gleichen Teilen vor dem Gebrauch gemischt und auf Siedetemperatur erhitzt. Man läßt die Objekte 5 bis 15 Minuten in der Lösung und erneuert diese nach jedesmaligem Gebrauch.

γ) Salzsäure. Schließlich taucht man die Objekte genau 5 Minuten in eine 20proz. wässrige Salzsäurelösung.

Bei Anwesenheit von Blausäure färben sich die Objekte infolge der Ausscheidung von Berlinerblau blau, und aus der Intensität der Färbung kann man annähernd auch einen Schluß auf die Menge der vorhandenen Blausäure ziehen.



Zur Durchführung der Probe empfiehlt TREUB dickere Schnitte zu nehmen, weil sich sonst die Cyanwasserstoffsäure sehr rasch verflüchtigt und die Reaktion unterbleibt.



Fig. 65.

Nachweis der Blausäure im Blatte von *Phaseolus lunatus* L. Die dunkeln Punkte sind in Wirklichkeit blau, *a* wurde morgens und *b* abends geprüft. Es ist zu sehen, wie der Blausäuregehalt gegen Abend zunimmt. (Nach Treub)

wurde um 6 Uhr morgens, der Teil *b* abends geprüft. Es ist deutlich zu sehen, wie sehr der Blausäuregehalt vom Morgen gegen Abend wächst.

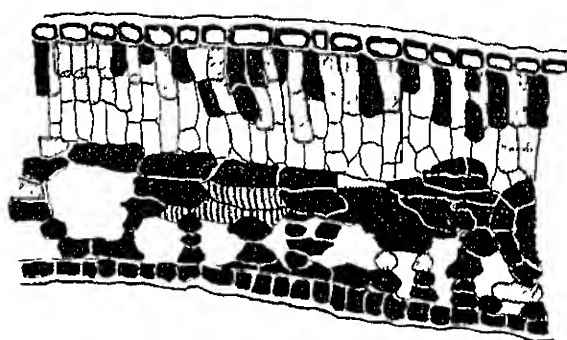


Fig. 66

Schema der Blausäurelokalisation im Blattquerschnitte von *Prunus Laurocerasus* L. BZ Blausäure-, GZ Gerbstoffzellen. (Nach Poche.)

weniger Blausäure enthalten, z. B. bei *Prunus Laurocerasus*, gelingt die Bürstenreaktion, wie PREIRE (I) hervorhebt, ebenfalls ganz gut, aber bei

Cyanwasserstoffsäure sehr rasch verflüchtigt und die Reaktion unterbleibt. TREUB (I, 10) hat auch in sehr anschaulicher Weise gezeigt, wie man nach Art der SACCHSschen Stärke-Jodprobe die Verteilung der Blausäure in einem ganzen Organe veranschaulichen kann. Wenn man z. B. den Blausäurenachweis für ein Blatt erbringen will, so klopft man das Blatt mit einer starren Haarbürste möglichst rasch und gleichmäßig und taucht es dann nacheinander in die drei Lösungen  $\alpha$ ,  $\beta$  und  $\gamma$ , unter genauer Einhaltung der angegebenen Zeiten. Die Lösungen dringen in die durch das Klopfen geschaffenen Wunden leicht ein und bewerkstelligen hier leicht die Überführung der Cyanwasserstoffsäure in Berlinerblau, das sich an den Wundrändern durch die blaue Farbe leicht zu erkennen gibt. Obwohl der Blausäuregehalt nur in der Wunde angezeigt wird, erhält man doch ein sehr anschauliches Bild über die Verteilung der Cyanwasserstoffsäure im Blatte. Die nebenstehende Fig. 65 zeigt den Effekt der Reaktion bei einem Blatte von *Phaseolus lunatus* L. Der Teil *a*

Solche Versuche lehren,

daß die Menge der Blausäure

GZ während der Belichtung

BZ zunimmt und während der Verdunklung abnimmt.

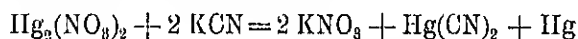
Die Methode TREUBS liefert sehr gute

Resultate.

Bei manchen Pflanzen, die

Schneiden nur dann, wenn man die Blätter rasch in kleine Stücke zerschneidet, sofort in der angegebenen Weise behandelt, auswäscht, in Alkohol härtet und dann erst Schnitte herstellt. *Prunus Laurocerasus* enthält oft so geringe Blausäuremengen, daß man häufig nur eine ganz schwache Grünfärbung erhält, und da sich überdies das Berlinerblau in der Lauge löst, so färben sich sowohl der Zellinhalt als auch die Membranen blau, was jedenfalls von Nachteil ist. Um diesem zu begegnen, führte PECHE (I) folgende Reaktion in die Mikrochemie ein:

2. Die bekannte Reduktion des Merkuronitrats (3%) durch Cyanwasserstoff zu metallischem Quecksilber unter Ausscheidung von weißem wasserlöslichen Merkuricyanid:



gibt ein Mittel an die Hand, die Blausäure lokal nachzuweisen. Da das Quecksilbersalz kalt angewendet wird und sehr rasch unter gleichzeitiger Fixierung in die Gewebe eindringt, findet die Blausäure nicht Zeit zu entweichen und wird am Orte ihres Freiwerdens durch das ausfallende, metallisch schwarze Quecksilber angezeigt (Fig. 66). Bei dieser Reaktion handelt es sich um eine Reduktion, und es ist natürlich, daran zu denken, ob diese nicht auch durch andere im Gewebe vorhandene reduzierende Körper bewerkstelligt wird. PECHE hat diesen Gedanken geprüft und zum Vergleiche namentlich die Carbonyl-, die phenolische Hydroxyl- und die Aminogruppe berücksichtigt. Die Carbonylgruppe reduziert Merkuronitrat nur in der Wärme, phenolisches Hydroxyl nur unter Bildung gelbbrauner Niederschläge und Quecksilber wird erst nach längerer Einwirkung ausgeschieden. Aminosäuren reduzieren kalt erst nach längerer Einwirkung. Ist Blausäure zugegen, so wird nach PECHE (I, 37) das metallische Quecksilber binnen wenigen Sekunden ausgefällt. So färbt sich das mit Wasser mazerierte Gereibsel einer bitteren Mandel mit Merkuronitrat sofort braunschwarz, das einer süßen aber nach längerer Zeit kaum hehtigau.

Um aber jeder Täuschung vorzubeugen, ist dringend zu empfehlen, zum Vergleiche stets auch die Berlinerblauprobe heranzuziehen und nur dann, wenn die beiden Reaktionen korrespondieren, die Blausäure für die Reaktion des Quecksilbernitrats verantwortlich zu machen.

PECHE verwendet eine 3proz. Lösung des Quecksilbersalzes ohne Erwärmen. Mit der Bürste geklopfte Blätter von *Prunus Laurocerasus* geben mit Merkuronitrat schwarze Wundpunkte, entsprechend der Vergleichsmethode von TREUB. Die besten Resultate erhielt PECHE mit Schneiden. Mit Rücksicht auf die außerordentliche Flüchtigkeit der CNH muß man sich mit der Herstellung der Schnitte und der Durchführung der Reaktion sehr beeilen.

TREUB konnte die Lokalisation der Blausäure bei *Pangium edule* REINW. in der Epidermis, dem Periderm und dem Baste des Stammes feststellen, ebenso in bestimmten Zellen des Markes und der Rinde. In Übereinstimmung damit wurde von PECHE in denselben Geweben und auch in den Holzmarkstrahlen mittels Merkuronitrat und der Berlinerblauprobe bei *Prunus Laurocerasus* die Cyanwasserstoffsäure konstatiert. In der Nähe von Wunden und Lenticellen war der Blausäuregehalt bei der genannten *Prunus*art vermehrt.

3. Reaktion mit Soda-Pikrinsäure-Papier. GUIGNARD (III). Ein Streifen Filtrierpapier wird in 1proz. wässrige Pikrinsäure getaucht, getrocknet, in 10proz. Sodalösung getaucht und, falls man es nicht gleich verwendet, abermals getrocknet. Ein so vorbereitetes Papier hat eine goldgelbe Farbe und ist gut haltbar. Wird ein so vorbereitetes Papier in ein Proberöhrchen, das etwa 1—2 cm<sup>3</sup> einer blausäurehaltigen Flüssigkeit enthält, gehängt und mit dem Stöpsel befestigt, so färbt sich das Papier rotorange, je nach der vorhandenen Menge der Blausäure und der Temperatur verschieden rasch und stark. Bei einem Gehalt von 0,00005 g HCN nach etwa 12, bei einem von 0,00002 g nach 24 Stunden.

Soll die Reaktion mit der Pflanze, z. B. mit der Bohne von *Phaseolus lunatus* ausgeführt werden, so bringt man einige Gramm pulverisierten Samen in ein kleines Kölbchen, befeuchtet mit Wasser bis zur Breikonsistenz und befestigt mit dem Stöpsel das Papier. Die Rotfärbung zeigt sich nach etwa 12 Stunden.

Die Reaktion ist noch nicht ganz aufgeklärt. Die Rotfärbung soll auf der Bildung von Isopurpursäure ( $C_8H_7N_5O_6K$ ), nach anderer Ansicht auf der von Aminonitrophenolen beruhen. —

#### 4. Reaktion mit Silbernitrat und Benzidin-Kupferacetat

Wir verdanken BRUNSWIK (II) eine vortreffliche Arbeit, in der zwei neue mikrochemische Verfahren (a u. b) zum qualitativen Nachweis von CNH in Pflanzenteilen bekannt gemacht werden: das eine mit 1% Silbernitrat und das andere mit Benzidin-Kupferacetat. Beide werden unter Benützung des niederen Siedepunktes von CNH (26° C) in der Gaskammer mit den Reagentien im hängenden Tropfen bei Zimmertemperatur ausgeführt. Um die Blausäure frei zu machen, wird der zu untersuchende Pflanzenteil in der Gaskammer 10 Stunden der Fermentation unterworfen und die Tötung der Zellen durch Zusatz von etwas Chloroform beschleunigt.

a) Bei der Probe mit 1% Silbernitrat entsteht bei der geschilderten Reaktionsanordnung kristallisiertes Silbercyanid in Form von Nadeln, Ranken und Drusen, die sich eindeutig von Silberchlorid und Silberrhodand mehrfach unterscheiden lassen, am einfachsten durch Umkristallisieren des Silbercyanids mit fast kochender 50proz. HNO<sub>3</sub> unter Deckglas in feinen Nadeln und Nadelbüscheln.

Wie die Silberchloridkristalle erweisen sich auch die Zylansilber- (und Rhodansilber-) Kristalle mit verschiedenen organischen Stoffen als „echt“ färbbar. Um blau gefärbte AgCN-Kristalle zu erhalten, ist es daher zweckmäßig, dem AgNO<sub>3</sub> gleich Methylenblau im hängenden Tropfen beizufügen.

b) Das Benzidin-Kupferacetatreagens besteht aus 1 Teil 3proz. Cu-Acetat + 5 Teilen gesättigter Benzidinacetalösung + 8 Teilen Wasser und gibt mit CNH eine blaue Benzidinoxydationsverbindung in Form von Nadeln oder Körnchen. Sie ist analog dem bekannten „Benzidinchromat“ und „Benzidinferri-cyanid“.

Die Empfindlichkeit der Silbernitratreaktion ist 0,06 γ CNH in einem Tropfen. Sie ist also sehr groß. Eine noch größere Empfindlichkeit zeigt die Reaktion mit Benzidin-Kupferacetat (0,02 γ CNH); dazu kommt, daß die erst durch Fermentation entstehende CNH sich summieren kann.

Mit beiden Proben lassen sich wegen ihrer großen Empfindlichkeit in sehr geringen Mengen WIENER Leuchtgas und im Tabakrauch (sogar noch in einem

ausgeblasenen Zugs) Blausäure eindeutig nachweisen. Für die einwandfreie Ausführung dieser beiden Reaktionen ist daher die Reinheit der Luft unerlässlich.

Das Zutreffen der Reaktion durch Überführung in Berlinerblau besagt, daß die Blausäure in locker gebundener Form vorliegt, denn die Blausäure der Glykoside gibt die Berlinerblauprobe nicht. Die Verhältnisse der Bindung liegen bei verschiedenen Pflanzen wahrscheinlich verschieden. Nach TREUB und JONG (I) findet sich in den Blättern von *Pangium Blausäure* in freiem oder in schwach gebundenem Zustande oder in beiden Formen, bei *Phaseolus lunatus* L. größtenteils als Glykosid und bei *Prunus Laurocerasus* nach PECIRE nicht nur in glykosidischer, sondern auch in sehr labiler Bindung.

Es wird demnach in der botanischen Literatur mehrfach angenommen, daß neben der festen glykosidischen noch eine „labile“ oder „lockere“ Bindung der Blausäure besteht. BRUNSWIK (II) hält die lockere Bindung für unwahrscheinlich und ist geneigt, sie durch die Annahme einer in der lebenden Zelle noch auseinander gehaltenen räumlichen Koexistenz von Blausäureglykosid und stark wirkenden Enzym (Kanalysin) zu erklären.

Bekanntlich hat TREUB in einer Reihe ausgezeichneter Arbeiten den Gedanken experimentell zu begründen versucht, daß die Blausäure das erste erkennbare Produkt der Stickstoffassimilation und vielleicht sogar die erste Stickstoffverbindung überhaupt darstellt. Auch GUIGNARD (I) konnte bei seinen Studien über das Pflöpfen von Cyanwasserstoff liefernden Pflanzen mit Erfolg die Berlinerblauprobe verwerten. Gerade derartige Untersuchungen lassen den Wert mikrochemischer Methoden von neuem erkennen.

### Saponin

bedeutet einen Kollektivbegriff für glykosidische N-freie Pflanzenstoffe, die im Pflanzenreiche, besonders in der Familie der Caryophyllaceae, sehr verbreitet sind und die sich durch folgende Eigenschaften auszeichnen: ihre wässerigen Lösungen schäumen stark beim Schütteln, sie verhindern das Absetzen feiner Niederschläge, lösen Blutkörperchen auf, im gepulverten Zustande erregen Saponine einen kratzenden Geschmack und Niesen. Es sind zahlreiche Saponine unter verschiedenen Namen beschrieben worden. Da sie aber gewöhnlich nicht kristallisieren, also sehr schwer rein zu erhalten sind, erscheinen die Analysenresultate und infolgedessen auch die Formeln unsicher. ROBERT schreibt ihnen die allgemeine Formel zu  $C_nH_{2n-1}O_{10}$ .

Die meisten Saponine sind in Wasser löslich, in kaltem absoluten Alkohol und Äther unlöslich. Sie sind durchwegs Zuckerpaarlinge, die bei der Hydrolyse in Zucker und Sapogenin zerfallen. Konzentrierte Schwefelsäure färbt Saponin unter Wasserentzug anfangs gelb, dann rot und nach längerem Stehen (10–15 Minuten) violett.

Der mikrochemische Nachweis mit Schwefelsäure gelang ROSOLL (II) bei Verwendung saponinreicher Pflanzenteile (*Saponaria officinalis* L. und *Gypsophila Struthium* L.). Die frische Seifenwurzel zeigt auf Schnitten in den meisten Parenchymzellen einen farblosen Zellsaft. Die trockene läßt, in Öl oder Glycerin betrachtet, in den meisten Zellen der Mittelrinde, in den Markstrahl- und Holzparenchymzellen formlose, homogene, weißlich-graue Inhaltsklumpen erkennen, die

sich bei Zufuhr von Wasser lösen und durch absoluten Alkohol wieder in Form kleiner Klumpen abgeschieden werden. Diese Klumpen färben sich nach Zusatz von reiner Schwefelsäure gelb, dann rot und später violett, wobei sie sich langsam lösen. Da Eiweiß mit  $H_2SO_4$  eine ähnliche Färbung (RASPAIL'S Reaktion) gibt, so wäre eine Täuschung möglich. Um dieser zu begegnen, kocht ROSOLL die Schnitte längere Zeit in Wasser und prüft dann vergleichend intakte und saponinfreie Schnitte.

Bei eiweißreichen Objekten aber können doch Zweifel auftauchen, da die RASPAIL'Sche Reaktion sehr störend wirkt. Deshalb modifizierte HANAUSEK (I) die Methodik, indem er die Einwirkung der Schwefelsäure einzuengen und die Reaktion durch ein Niederschlag bildendes Mittel besser zu kennzeichnen suchte. Zu diesem Zwecke bediente er sich der von LAFON zum Digitalinnachweis benutzten Alkohol-Schwefelsäuremischung (1:1) mit nachträglichem Zusatz von Eisenchlorid. Die Mischung, kalt oder warm angewendet, ruft Gelb-, dann Rot- und zuletzt Violettfärbung hervor. Auf Zusatz von verdünnter Eisenchloridlösung entsteht ein bräunlicher oder bräunlich-blauer Niederschlag, dessen blauer Ton um so mehr hervortritt, je saponinreicher das Gewebe ist. Positiv fiel die Probe nach HANAUSEK aus bei *Agrostemma Githago* (Same), *Dianthus Carthusianorum* (Same), *Sapindus Saponaria* L. (Frucht), *S. esculentus* (Frucht), *radix Saponariae rubrae*, *Sapindi*, *Senegae*, der Wurzel von *Polygala amara*, *P. major* und der Quillaja-Rinde. In der Senega und den übrigen Polygalawurzeln finden sich die Saponin-substanzen vorzugsweise in den subepidermalen Gewebeschichten, und zwar im Phellogen und dem Rindenparenchym der Mittelrinde. Im Samenkorn von *Agrostemma Githago* gibt nur der Embryo die Saponinreaktion, aber nicht das Endosperm.

#### V Verbreitung.

Die Saponine sind ähnlich den Gerbstoffen ungemein verbreitet. WAAGE (I) gibt eine Zusammenstellung der bisher aufgefundenen Saponinpflanzen und konnte weit über 200 Arten namhaft machen. Nach GRESHOFF kommt Saponin in der Gruppe der Farne und in etwa 70 Familien der Mono- und Dikotylen vor. Und zwar in den Blättern, wo Saponin entstehen kann, in Rinden und Fruchtschalen, wo sie als Schutzstoffe wirken, und in Samen und Wurzeln, wo sie als Reservestoffe dienen sollen. Bei den meisten Pflanzen kommt man den Sitz des Saponins noch nicht, und es wäre daher erwünscht, wenn jemand das Vorkommen der Saponine in den Zellen und Geweben mikrochemisch bei den zahlreichen, darauf noch nicht studierten Gewächsen untersuchen würde.

Auffallend ist die Koinkidenz des Vorkommens von blausäurehaltigen Glykosiden und von Saponinen bei zahlreichen Pflanzen, so bei Araceen (Arum), Bixaceen (*Gynocardia*), Combretaceen (*Combretum*), Compositen (*Dimorphoteca*), Gramineen (*Panicum*), Magnoliaceen (*Liriodendron*), Papilionaceen (*Oxytropis*), Ranunculaceen (*Clematis*), Rosaceen (*Spiraea*), Saxifragaceen (*Ilydrangea*), Sapindaceen und Sapotaceen.

#### Saponarin, $C_{21}H_{21}O_{12}$ .

##### Vorkommen.

Bei einigen Phanerogamen findet sich gewöhnlich in der Epidermis der Laubblätter ein gelöster Stoff vor, der sich mit Jodjodkalium blau bis violett färbt und der deshalb früher als „lösliche oder formlose Stärke“ bezeichnet wurde. Aber

schon DUFOR (I) hat dargetan, daß dieser von SANTO bei *Gagea lutea* entdeckt Körper mit Stärke nichts zu tun hat, und BARGER (I, II), der diesen Stoff zuerst aus *Saponaria officinalis* isoliert hat, zeigte, daß es sich um ein Glykosid von der Formel  $C_{21}H_{24}O_{12}$  handelt und nannte es Saponarin. DUFOR untersuchte etwa 1300 Pflanzen und fand es nur bei etwa 20 Phanerogamen; MOISCH (I) konstatierte es bei dem Lebermoos *Madotheca platyphylla* und KOZŁOWSKI (I) in dem Laubmoos *Mnium cuspidatum*. Einen Körper, der die Reaktionen des Saponarins gibt, führen folgende Pflanzen

Caryophylloae: *Saponaria officinalis* L., *Gypsophila perfoliata* L., *G. scorpioides* L., *G. repens* L., *G. paniculata* L., *G. elegans* BIEB., *Tunica Saxifraga* SCHR.

Cruciferae: *Alliaria officinalis* ANDRZ.

Papilionaceae: *Orobanchis vermiculata* L.

Malvaceae: *Hibiscus syriacus* L.

Cucurbitaceae: *Bryonia dioica* JACQU.

Compositae: *Centauria paniculata* W.

Liliaceae: *Gagea lutea* SCHULTZ, *Ornithogalum umbellatum*, *O. nutans*, *O. lanceolatum*, *O. longibracteatum*.

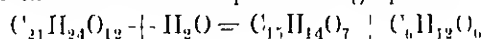
Gramineae: *Bromus erectus* HUDS., *Hordeum vulgare* L., *H. hexastichum* L., *H. distichum* L., *H. coeleste* VIB., *H. trifurcatum* SCHUL., *H. murinum* L.

Hepaticae: *Madotheca platyphylla*.

Musci: *Mnium cuspidatum*.

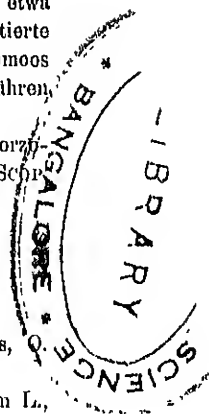
Da BARGER das Saponarin nur bei *Saponaria officinalis* studiert und als Glykosid erkannt hat, so bleibt es vorläufig fraglich, ob auch bei den anderen angeführten Pflanzen jener im Zellinhalt gelöste Körper, der sich mit Jodjodkaliumlösung violett färbt, Saponarin ist. Mit großer Wahrscheinlichkeit aber kann man wenigstens für die Fälle, wo auf mikrochemischem Wege die charakteristischen Kristalle der Jodverbindung des fraglichen Körpers erhalten worden sind, annehmen, daß es sich auch hier um Saponarin handeln dürfte.

Eigenschaften: Doppelbrechende Nadelchen von 4–7  $\mu$ . Kaum löslich in kaltem Wasser und kaltem Alkohol, schwer löslich in heißem Wasser und heißem Alkohol, löslich in Pyridin. Kohlensäure und kaustische Alkalien nehmen Saponarin leicht mit intensiv gelber Farbe auf. Mineralsäuren lösen es mit gelber Farbe, Schwefelsäure mit blauer Fluoreszenz. Durch Jodjodkaliumlösung wird die wässrige Lösung intensiv blau gefärbt. Diese Färbung verschwindet auf Zusatz von Alkohol, Äther, Chloroform und Wasser, desgleichen beim Erwärmen, kommt aber nach dem Erkalten wieder zurück. Durch verdünnte Säuren wird Saponarin in Zucker und Saponaretin gespalten.



#### Nachweis.

Von den erwähnten Eigenschaften läßt sich die Fähigkeit des Saponarins, mit Jod eine blaue Verbindung zu geben, gut verwerten. Bringt man z. B. ein Blatt von *Madotheca platyphylla* in einen Tropfen Jodjodkaliumlösung, so färbt sich der Zellinhalt tief blau oder violett. Dieselbe Färbung tritt auch bei Behandlung mit Jodwasser oder Joddampf ein. Jodalkohol zieht das Saponarin aus, ohne zu färben, nach dem Verdampfen des Alkohols aber färbt sich das ausgefallene Saponarin, besonders am Rande des Deckglases, nach und nach violett, und nicht selten findet man die Jodverbindung in schönen, zu sternartigen Aggregaten gruppierten Kristallnadeln oder in Form einer ungemein charakte-



ristischen, aus spinnwebartigen oder fädigen Kristallen bestehenden Masse, die gleich einem zarten, violetten Filz oder Schleier den Objektträger bedeckt. Dasselbe erreicht man auch, wenn man Blätter mit Wasser unterm Deckglas zum Sieden erhitzt, das Wasser verdampfen läßt und dann Jodjodkaliumlösung hinzufügt. — Beim Erwärmen verliert die Jodverbindung des Saponarins ihre Farbe, gewinnt sie aber beim Abkühlen wieder. Die Jodverbindung läßt sich lange aufbewahren, ohne ihre Färbung an der Luft zu verändern. Beim Zusatz von Wasser färben sich die rotvioletten Kristalle blauviolett oder blau und lösen sich nach einiger Zeit auf (MOLISCH I, 488) (s. auch KLEIN II).

#### Unbekannte Körper, vielleicht glykosidischer Natur, im Saft der Schlauchzellen von *Mimosa pudica*.

Beim Anschneiden eines Blattes (Blattgelenks) oder Stengels tritt aus der Schnittfläche ein kleiner Tropfen hervor, der aus den das Leptom durchziehenden Schlauchzellen stammt. Diese Tropfen stellen unter anderem eine konzentrierte Lösung eines Körpers dar, der beim Verdunsten auskristallisiert und mit Eisenchlorid eine tiefrot-violette Färbung annimmt. HABERLANDT (I), der auf diesen Körper zuerst aufmerksam gemacht und seine Eigenschaften mikrochemisch untersucht hat, gelangt zu der Ansicht, daß es sich wahrscheinlich um ein Glykosid oder um eine glykosidartige Substanz handelt.

Die aus dem Safttropfen sich abscheidenden Kristalle sind verschieden geformt: farblose Kristallprismen mit schrägen Endflächen, drusige Aggregate von solchen, kreuzförmige Zwillinge, Rauten, federartige oder vierstrahlige Aggregate, Dendriten, Pinsel und Sphärite. Alle diese Kristalle geben nach HABERLANDT die erwähnte Färbung mit Eisenchlorid. Der Körper ist in Wasser leicht, in absolutem Alkohol schwer, in Äther ganz oder fast unlöslich; konzentrierte Schwefelsäure löst mit gelbgrüner Farbe, Eisenvitriol bewirkt eine intensiv rostrote Färbung. FENLINGS-Lösung reduziert direkt nicht, wohl aber nach Behandlung mit verdünnter Schwefelsäure. Der fragliche Körper ist nach MOLISCH (IV) flüchtig. Setzt man die Rückstände des Mimosa-Tropfens bei nicht zu hoher Temperatur der Mikrosublimation aus, so erhält man, falls man das Sublimat sich knapp über den erwärmten Kristallen bilden läßt, Tröpfchen, die mit Eisenchlorid dieselbe rotviolette Färbung wie die Kristalle des Mimosa-Tropfens geben. Nach dem Gesagten haben wir es wahrscheinlich in dem Mimosa-Tropfen-Kristallbrei mit einem Körper der aromatischen Reihe, vielleicht mit einem Phenol zu tun. Hierfür sprechen die auffallende Violett-färbung mit Eisenchlorid, das Eintreten der MILLONschen Reaktion, die leichte Löslichkeit in Laugen und die Flüchtigkeit bei höherer Temperatur. Ich glaube nicht, daß die fragliche Substanz mit der Reizleitung in ursächlichem Zusammenhang steht, denn *Mimosa Spegazzini*, die bekanntlich dieselben Reizerscheinungen zeigt wie *M. pudica*, führt diesen Körper in den Schlauchzellen nicht. Nebenbei sei noch bemerkt, daß der Schlauchsaft von *M. Spegazzini* sich im Gegensatz zu *M. pudica* mit konzentrierter Schwefelsäure momentan intensiv blut- bis braunrot färbt.

#### Myriophyllin

An der Basis, den Seiten und Spitzen der jungen Myriophyllum-Blätter sitzen chlorophyllose Haare, in deren Zellen sich große, stark lichtbrechende, blattartige Kugeln befinden. Diese schon öfter gesehenen, seinerzeit als Luft (!) gedeuteten Inhaltskörper wurden von RACIBORSKI (I) genauer untersucht. Äußerlich ähneln sie Gerbstoffvakuolen und haben auch dieselbe Entwicklungsgeschichte. Sie enthalten aber keinen Gerb-

stoff. Warme konzentrierte Eisenchloridlösung bräunt sie, Vanillinsalzsäure und Coniferinsalzsäure färbt purpurrot, durch Anilinsulfat und Kaliumnitrat werden sie gelb, dann rotbraun und durch Diphenylamin und Schwefelsäure nach gelindem Erwärmen zunächst gelb, dann rot und schließlich braun gefärbt.

In Alkohol, Glycerin, Kalilauge, Chloralhydrat, Ammoniak und Eisessig lösen sie sich, in konzentrierten Mineralsäuren und Pikrinsäure sind sie unlöslich.

Einige dieser Reaktionen kommen auch dem Phloroglucin zu, doch ist nach RACIBORSKI keine Substanz bekannt, die im mikrochemischen Verhalten dem Myriophyllin ganz entspricht. Er hält es für wahrscheinlich, daß das Myriophyllin einen glukosidartigen, leicht oxydierbaren Körper darstellt. PRÖSCHER (I) konnte in der Tat zeigen, daß die rote Färbung, die das Myriophyllin mit Vanillinsalzsäure und vielen anderen Verbindungen gibt, auf einer Oxydation beruht, die durch Abspaltung stark oxydierbarer Hydroxylgruppen bewirkt wird. — Ebenso reagierende glukosidartige Körper kommen nach RACIBORSKI auch vor in den Haaren der Blatt- und Antherenspitzen der *Ceratophyllum*-Arten, den Haaren der jungen Blätter der *Elatine Alsinastrum*, in *Nymphaea*- und *Pontederia*-Blättern, in den Wurzelhaaren der *Azolla*-Arten, auch sind hierher zu stellen die roten Bläschen in den Wurzeln des *Desmanthus natus* und die Gerbstoffzellen der Epidermis der *Saxifraga*-Arten (Sect. *Cymbalaria*). Weitere Untersuchungen müssen lehren, ob wir es hier mit derselben chemischen Verbindung oder mit nahe verwandten zu tun haben.

Jüngst hat sich JANSON (I) neuerdings mit den Myriophyllum-Kugeln beschäftigt und kommt zu dem Schlusse, „daß die Kugeln wesentlich aus einem Eiweißstoff bestehen, mit geringen Beimengungen von gerbstoffartigen Stoffen“, ohne aber überzeugende Beweise zur Eiweißnatur zu bringen.

Anschließend seien noch das Plumbagin, das Spergulin und das Betulin erwähnt, drei derzeit zu den Bitterstoffen gestellte Körper. Das Plumbagin wurde aus der Wurzel von *Plumbago europaea* gewonnen und kommt vielleicht auch in anderen *Plumbago*-Arten vor. Es ist chemisch noch wenig erforscht und wurde von HERRMANN (I, 32) mikrochemisch in der Wurzel nachgewiesen.

Das Spergulin ist von HARZ (I, 489) in den Samenschalen von *Spergula vulgaris* v. BÖNNINGH und *Sp. maxima* W. entdeckt worden. Es stellt ein dunkelbraunes Pulver dar und löst sich leicht in absolutem und wasserhaltigem Alkohol. Diese Lösung erscheint im durchfallenden Lichte farblos bis schwach grünlich oder olivenbraun, im auffallenden aber intensiv dunkelblau. Übergießt man Schmitte durch die Samenschale mit Alkohol und beobachtet man auf schwarzem Glase, so erscheint die schwarze Testa prachtvoll blau gefärbt.

Das Spergulin ist unlöslich in fetten Ölen, Terpentinöl, Benzin, Schwefelkohlenstoff, Chloroform, Säuren und Wasser. Es löst sich aber mit schön dunkelblauer Farbe in konzentrierter Schwefelsäure. Fügt man der alkoholischen Lösung Spuren von Atzkali, Ätznatron oder Ammoniak zu, so verwandelt sich die ursprünglich dunkelblaue Fluoreszenz vorübergehend in eine prachtvoll smaragdgrüne.



Die Epidermiswände der Samenschale enthalten allein das Spergulin. Nur diese färben sich mit Schwefelsäure blau. Alle anderen Teile der Samenschale und des Samenkerns sind frei von Spergulin.

Das Betulin (Betulakampfer)  $C_{36}H_{60}O_3$  (?) findet sich in dem weißen Kork der *Betula alba*.

Eigenschaften. Er bildet farblose lange Prismen und sublimiert äußerst leicht in langen, zarten Nadeln. Er ist unlöslich in Wasser, wenig löslich in Alkohol, Äther, Chloroform, Benzol, leichter bei Siedetemperatur der Lösungsmittel.

Mikrosublimation. Es gibt wenige Substanzen, die so ausgezeichnet sublimieren wie das Betulin. TUNMANN (II) hat die Mikrosublimation zuerst durchgeführt und empfiehlt das Betulin geradezu als Übungsbeispiel für Sublimation. Man erhält es in quantitativer Ausbeute. Weiße Korkstücke von weniger als  $\frac{1}{10}$  mg liefern bereits starke kristallinische Sublimate. Stücke von 0,1 g geben Effloreszenzen, die schon mit bloßem Auge als weißer, federartiger, verfilzter Belag zu erkennen sind. Es bilden sich feine Prismen, Nadeln, Spieße, die sich zu Sternen, Drusen, Dendriten oder einem Filz vereinigen. Oft sind die Nadeln und Spieße von Querbrüchen durchsetzt, was sehr charakteristisch ist. Betulinkristalle setzen sich auch in den Korkstückchen selbst ab. Die Kristalle lösen sich leicht in Anilin, schwerer in wässrigem Chloralhydrat, Eisessig und heißem Benzol. In Alkohol, Petroläther, Schwefelkohlenstoff, Chloroform und Äther lösen sie sich unter Deckglas selbst beim Aufkochen nur zum Teil. Bei Einwirkung von konzentrierter Schwefelsäure tritt Gelbfärbung unter Vakuolenbildung ein.

Das Betulin bildet in den Korkzellen amorphe, eingetrocknete Klumpen, die die Zellen bisweilen ganz erfüllen, oder kleinkörnige Massen.

## Literatur

zu p. 180 bis 202.

- Albertus, H., I. Beitr. z. Kenntnis des Vorkommens hesperidinartiger Körper bei der Familie der Labiatae. (Svensk farmaceutisk tidskrift 1919, 23. Årg., p. 609—614.)
- Albo, G., I. Sulla funzione fisiologica della Solanina. (Contrib. alla Biologia veget. 1899, Vol. II, p. 185—209, Palermo.)
- Babikoff, J., I. Über das Vorkommen des Salicins in den Weiden. (Arb. d. St. Petersburger Ges. d. Naturforscher 1874, Bd. V, Heft 2, p. I—II; Ref. Justs. Jahrb. 1874, p. 825.)
- Barger, G., I. Saponarin, ein neues, durch Jod blau gefärbtes Glykosid aus Saponaria (Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 1902, Jg. 35, p. 1296)
- , II. Saponarin, a new Glucoside coloured blue with Iodine. (Transactions of the Chemical Society 1906, Vol. LXXXIX, p. 1210.)
- Boguslawsky, I. Arbeiten d. 2. Vers. russ. Naturf. z. Moskau 1869.
- Borodin, J., I. Sitzungsber. d. bot. Sekt. d. Ges. d. Naturf. St. Petersburg 1883, nur russisch; das eingehendste Ref. darüber bei Modrakowsky, G., Über das Hesperidin in *Conium maculatum*. (Pola. Arch. f. biol. u. med. Wiss. 1905, Bd. III, Sep. Zitiert nach TUNMANN.)
- Borścow, E., I. Über die Verteilung einiger organischer Verbindungen in den Gewebelementen des Pflanzenkörpers. (Bot. Ztg. 1874, Jg. 32, p. 36.)

- Brandt, I. Über einige neue Alkaloidreaktionen. Rostock 1876. Zitiert nach WOTTSCHALL.
- Brunswick, H., I. Über neuere Verfälschungen und Verschlechterungen von Drogen. 7. Mitt.: *Melissa offic.* (Ztschr. d. Allg. oest. Apothekervereins 1920, p. 201.)
- , II. Der mikrochem. Nachweis pflanzlicher Blausäureverbindungen. (Sitzungsber. d. Akad. d. Wiss. in Wien 1921, Bd. CXXX, p. 389.)
- Cabannes, E., I. De la localisation des principes actifs dans la *Rhamnus Purshiana*. (Répert. de Pharm. 1896, T. LII, No. 3; Ref.: Justs bot. Jahrb. 1896, Jg. 21, Abt. I, p. 413.)
- Dufour, J., I. Recherches sur l'amidon soluble etc. (Extr. d. Bull. de la Soc. vaud. d. Scienc. nat. 1886, Vol. XXI, No. 93.)
- Greshoff, M., I. Über die Verteilung der Blausäure in dem Pflanzenreiche. (Bull. sc. pharmacol. 1906, Bd. XIII, p. 589—602; desgl. Archiv d. Pharm. 1906, Bd. CCLIV, p. 397—400; Ref.: Justs bot. Jahrb. 1906, p. 774.)
- , II. Pharm. Weekblad 47.
- Günigard, L., I. Recherches physiologiques sur la greffe des plantes à acide cyanhydrique. (Annal. des scienc. nat. Botanique 1907, 9e sér., T. VI.)
- , II. Sur la localisation des principes, qui fournissent les essences sulfurées des Crucifères. (Comptes rend. Paris 1890, T. CXI, I. sem., p. 249.)
- , III. Le Haricot à acide cyanhydrique, *Phaseolus lunatus* L. (Compt. rend. Bd. CXLII, [1906], p. 552.)
- Haberlandt, G., I. Das reizleitende Gewebesystem der Sumpfpflanze. Leipzig 1890, p. 16.
- Hanaušek, T. F., I. Zur Kenntnis des Vorkommens und Nachweises der Saponin-substanzen im Pflanzenkörper. (Chemiker-Ztg. Wien. 1892, Nr. 71 u. 72.)
- , II. *Redul* (folia *Crataegi*). (Pharm. Post. Wien. Dez. 1892.)
- Harz, C. O., I. Über die Entstehung und Eigenschaften des Spergulin, eines neuen Fluoreszenten. (Bot. Ztg. 1877.)
- Heinrich, E., I. Die Eiweißschlitzche der Cruciferen und verwandte Elemente in der Rhoadneenreihe. (Mitt. u. d. Bot. Inst. z. Graz 1888, p. 1.)
- Herrmann, O., I. Nachweis einiger organischer Verbindungen in den veget. Geweben. (Diss. Leipzig 1876.)
- Höbnel, F. v., I. Histochemische Untersuchungen über das Xylophilin und das Koniferin. (Sitzungsber. d. Kais. Akad. d. Wiss. in Wien. Bd. LXXVI, p. 663.)
- Janson, E., I. Über die Inhaltskörper der Myriophyllum-Trichome. Flora 1918, p. 265.
- Jong, A. W. R. de, I. Einige Bemerkungen über Blausäurepflanzen. (Extrait des Ann. d. Jardin Bot. d. Buitenzorg, 1908, ser. 2, Vol. VII, p. 1.)
- Klein, G., I. Die Verbreitung des Hesperidins bei den Gahneae. [Ein neuer Fall von chem. Rassen.] (Sitzungsber. d. Akad. d. Wiss. in Wien 1921, Bd. CXXX, Heft 8 u. 9.)
- , II. Der histochemische Nachweis der Flavone. (Sitzungsber. d. Akad. d. Wiss. in Wien. Bd. CXXXI, p. 23.)
- Kozłowski, M. A., I. Sur la saponarine chez le *Mnium cuspidatum*. (Compt. rend. 1921, p. 429.)
- Mandelin, I. Pharm. Zeitschr. f. Rußland. 1883, Nr. 22—24: Refer. Justs bot. Jahrb. 1883, Abt. I, p. 75.
- Molisch, H., I. Über das Vorkommen von Saponarin bei einem Lebermoos [*Madothoka platyphylla*]. (Ber. d. deutsch. bot. Ges. 1911, Bd. XXIX, p. 487.)
- , II. Ein neues Koniferinreagens. (Ebenda 1886, Bd. IV, p. 301.)
- , III. Beitr. z. Mikroch. Nr. 8. Über einen leicht kristallisierbaren, organischen Körper bei *Linaria-arten*. (Ebenda 1917, Bd. XXXV, p. 99.)

- Molisch, H., IV. Über einige Beobachtungen an *Mimosa pudica*. (Sitzungsber. d. Kais. Akad. d. Wiss. i. Wien. 1915, Bd. CXXIV, Abt. I, p. 524.)
- Poche, K., I. Mikrochemischer Nachweis der Cyanwasserstoffsäure in *Prunus Laurocerasus* L. (Sitzungsber. d. Kais. Akad. d. Wiss. i. Wien 1912, Bd. CXXI, Abt. I, p. 33—85.)
- Pfeffer, W., I. Hesperidin, ein Bestandteil einiger Hesperideen. (Bot. Ztg. 1874, Jg. 32, p. 220.)
- Pröschner, F., I. Untersuchungen über RACIBORSKIS Myriophyllin. (Ber. d. deutsch. bot. Ges. 1895, Bd. XIII, p. 345.)
- Raciborski, M., I. Über die Inhaltskörper der Myriophyllumtrichome. (Ber. d. deutsch. bot. Ges. 1893, Bd. XI, p. 348.)
- Raczynski, S., I. Notice sur la distribution de la salicine dans les tissus de saules (Bull. de la soc. imp. des natur. de Moscou 1806, No. 31.)
- Rijn, J. J. L. van, I. Die Glykoside. Berlin 1900.
- Rosenthaler, L., I. Beitr. z. Blausäurefrage. Schweiz. Apoth.-Ztg., 57. Jg., (1919), p. 267.
- Rosoll, A., I. Über den mikrochemischen Nachweis der Glykoside und Alkaloide in den veget. Geweben 1890. (25. Jahresber. d. niederöstr. Land.-Gymn usw. in Stockerau. p. 8.)
- II. Beiträge zur Histochemie der Pflanze. (Sitzungsber. d. Kais. Akad. d. Wiss. i. Wien 1884, Bd. LXXXIX, Abt. I, p. 143.)
- Schell, J., I. Über das Syringin. (Arb. d. Naturforscherges. a. d. Univ. zu Kasan. 1873, Bd. II; Ref. Justs bot. Jahrb. 1873, p. 596.)
- Singer, M., I. Beitr. zur näheren Kenntnis der Holzsubstanz und der verholzten Gewebe. (Sitzungsber. d. Kais. Akad. d. Wiss. i. Wien 1882, Bd. LXXXV.)
- Theorin, I. Våxtmikrokemiska Studier. (Öfvernigt af Kongl. Vetenskaps Akad. förhandlingar 1884, No. 5.)
- Tienb, M., I. Sur la localisation, le transport et le rôle de l'acide cyanhydrique dans le *Plangium edule* RERNW. (Extrait des Annales du Jardin Bot. de Buitenzorg. 1895, Vol. XIII, p. 1—89.)
- , II. Nouvelles recherches sur le rôle de l'acide cyanhydrique dans les plantes vertes (Ebenda 1905, 2. ser., Vol. IV; 1909, 2. sér., Vol. VIII.)
- Tschirch, A., I. Handbuch der Pharmakognosie. 1914, p. 927.
- Tunmann, O., I. Der Nachweis des Askulins durch Mikrosublimation, speziell für die Diagnose des Rhizoma Gelsemii usw. (Apoth.-Ztg. Berlin 1911, p. 612.)
- , II. Zur Mikrochemie des Betulakampfers (Apoth.-Ztg. Berlin 1911, Jg. 26, p. 344.)
- , III. Der weitere Ausbau der Mikrosublimationsmethode und der Nachweis des Arbutins in Pflanzen. (Ber. d. deutsch. pharm. Ges. 1911, Jg. 21, p. 312.)
- , IV. Über kristallinische Ausscheidungen in einigen Drogen (Hesperidine) usw. (Verh. Naturf. Ges. Salzburg 1910, II, I, p. 113. Schweiz. Wochenschr. f. Ch. u. Ph. 1909, Bd. XLVII, Nr. 51 u. 52.)
- , V. Über folia uvae ursi und den mikrochem. Nachweis des Arbutins. Pharm. Zentralbl. 1906, Bd. XLVII, Nr. 46.
- , VI. Zur Mikrochemie des Askulins und zum Nachweis dieses Körpers in *Aesculus hippocastanum* L. (Schweiz. Wochenschr. f. Chemie u. Pharmazie. 1916, Bd. LIV, p. 45—47.)
- , VII. Über das Hesperidin und die Kristalle von *Hyssopus officinalis*. (Apoth.-Ztg. Berlin 1915, p. 214.)
- , VIII. Der mikrochem. Nachweis des Baptisins in *Baptisia tinctoria* (Wurzel). (Ebenda, p. 272.)

- Tutin, F., I. The proposed method of mikrosublimation for the detection of aesculin and the identification of Gelsemium. (The Pharm. Journ. and Pharmacist, 1912, Febr. 10.)
- Vanderlinden, E., I. Recherches microchimiques sur la présence des alcaloïdes et des glycosides dans la famille de Ranunculacées. (Recueil de l'institut botanique [université de Bruxelles], 1902, T. V, p. 135.)
- Vogl, A. E., I. Scrophularia nodosa L., its spaiocryystals and some allied bodies. (The Pharm. Journ. London 1896, 4. ser., vol. II, p. 101.)
- Wange, Th., I. Über das Vorkommen saponinartiger Stoffe im Pflanzenreiche. (Pharm. Zentralhalle. 1892, Jg. 33, p. 657.)
- Weevers, Th., I. Die physiologische Bedeutung einiger Glykoside. (Jahrb. f. wiss. Bot. 1904. Bd. XXXIX.)
- , II. Rec. Trav. bot. néerland. 1910, T. VII, p. 1—62

### VIII. Pflanzenfarbstoffe.

#### 1. Flechtensäuren und Flechtenfarbstoffe.

##### Allgemeines.

Zahlreiche Flechten bilden eigentümliche, sonst im Pflanzenreiche bisher nicht aufgefundene Stoffe, die sogenannten Flechtensäuren. Um die Erforschung dieser nur den Flechten eigentümlichen Substanzen haben sich namentlich Hesse, Paterno und Zopf sehr verdient gemacht. Zopf (I) hat als Botaniker uns eine ausgezeichnete Monographie und Hesse eine vortreffliche chemische Übersicht (I) über die Summe unserer derzeitigen chemischen Kenntnisse der Flechtenstoffe und Flechtensäuren beschert. Auf diese beiden Schriften sei besonders hingewiesen.

Die Flechten sind bekanntlich Doppelwesen, denn jede Flechte besteht aus einer Alge und einem Pilz. Es ist nicht unwahrscheinlich, daß dieser Symbiose die eigentümliche Natur und die erstaunlich große Zahl von Flechtensäuren zu verdanken ist. Wenn man nur die gut kristallisierenden Flechtensäuren betrachtet, so gibt es davon schon mehr als 140. Die meisten (etwa 94) gehören der aromatischen oder Benzolreihe und die übrigen der Fettreihe an.

Zur Fettreihe gehören zahlreiche farblose und gefarbte Flechtensäuren, zur Benzolreihe viele farblose, die bei gewissen Spaltungen Orem oder dessen Homologe liefern und daher als Oremderivate, und zahlreiche gefärbte Säuren, die sich vom Anthracen herleiten und als Anthracenderivate zusammengefaßt werden können.

In den meisten Fällen stellen die Flechtensäuren Auswurfstoffe dar, die niemals durch die Alge, sondern stets durch die Hyphen des Pilzes, und zwar nicht im Zellinnern, sondern an der Oberfläche der Hyphen abgeschieden werden (Zopf I, 339). Die Exkrete treten in Form von winzigen Körnchen, Stäbchen oder sogar in deutlichen Kriställchen auf. So findet man an den Hyphen von *Lepraria candellaris* Schaeer und *Coniocybe furfuracea* Calycin- resp. Coniocybsäure-Kristalle von über 20  $\mu$  Länge. Die Menge der an Hyphen des Markes und der Rinde abgeschiedenen Flechtensäuren ist oft eine so große, daß die Zellen ganz inkrustiert erscheinen und die Säuren erst weggelöst

werden müssen, wenn man die Form der Zellen erkennen will. So erhielt HESSE aus *Parmelia coralloidea*, bezogen auf Lufttrockensubstanz,  $23\frac{1}{2}\%$  Lecanorsäure, aus *Lepraria chlorina*  $10\frac{1}{2}\%$  Vulpinsäure und ZOPF aus *Evernia prunastri* L. var. *sorediifera* Ach. insgesamt  $8\frac{1}{2}\%$  Flechtensäuren, darunter  $5,3\%$  Atranorsäure allein.

Ob die Flechtensäuren bloße Exkrete sind oder sonst noch für das Leben der Flechten etwas bedeuten, ist eine Frage, über die sehr verschiedene Ansichten ausgesprochen worden sind. Der gewöhnlichen Ansicht (BACHMANN, ZUKAL, STAHL I), daß diese Stoffe Schutzmittel gegen Tierfraß darstellen und die meiner Meinung nach viel für sich hat, ist ZOPF (I, 372) entgegengetreten. Nach ihm sind die Flechtensäuren im allgemeinen nicht imstande, Schutzmittel gegen Tierfraß abzugeben, da zahlreiche Flechten von verschiedenen Tieren (Glieder-, Weich- und Wirbeltieren) gefressen werden.

### Über den Nachweis der Flechtensäuren in der Flechte selbst.

Man kann gerade nicht sagen, daß mikrochemische Reaktionen bisher bei systematischen Studien eine bedeutende Rolle gespielt haben, nur in der Flechtensystematik hat man immer wieder den Versuch gemacht, gewisse Farbenreaktionen zur Scheidung und Erkennung der Gattungen und Arten und zur Auffindung des Sitzes der Flechtensäuren zu verwerten. Einige Lichenologen wie KÖRBER, J. MÜLLER, STEIN, FORSELL, JATTA und SYDOW hielten auf die Farbenreaktionen im Dienste der Systematik nicht viel, während andere wie ARNOLD, WAINIO, HUE, ZAHLBRUCKNER, LEIGHTON, CROMBIE, OLIVIER, HARMAND, SANDSTEDT, ZOPF und andere von solchen Reaktionen regelmäßig Gebrauch machten und der Flechtensystematik damit gute Dienste leisteten. Man benutzt, wie ich aus dem Werk von ZOPF (I, 343) entnehme, gegenwärtig folgende Reagentien zum Nachweis der Flechtensäuren und ihres Sitzes:

1. Alkalien: Kalilauge, Natronlauge, Sodalösung, Ammoniak, doppelkohlensaures Kali, doppelkohlensaures Natron.
2. Alkalische Erden: Ätzbaryt, Baryumsuperoxyd, Ätzkalk und Calciumsuperoxyd.
3. Unterchlorigsaure Salze (Hypochlorite): Chlorkalk, unterchlorigsaures Natron.
4. Mineralsauren. Konzentrierte Schwefelsäure, Salpetersäure

#### 1. Ätzbaryt, $Ba(OH)_2$ , und Kalkwasser, $Ca(OH)_2$ .

werden in gesättigten Lösungen, die vor dem Gebrauch zu filtrieren sind, verwendet. Sie geben mit den meisten Flechtensäuren intensiv gelbe, rote, violette, spangrüne oder blaue Verbindungen, die im Wasser schwer oder völlig unlöslich sind und da niedergeschlagen werden, wo die Flechtensäuren ihren Sitz haben. Dies ist von Wichtigkeit, weil daraus die Verteilung der Flechtensäure im Thallus erkannt wird.

Mit Baryt- oder Kalkwasser liefern:

Gelbe Verbindungen: Atranorin, Everssäure, Ramalsäure, Thamnolsäure, Hirtellsäure, Alectorialsäure, Leprarin.

Rostrote bis blutrote Verbindungen: Usnarsäure, Salacinsäure, Skopulorsäure, Kullenssäure.

Purpurviolette bis violette Verbindungen: alle vom Anthracen sich ableitenden Flechtensäuren: Physcion, Solorinsäure, Nephromin, Fragilin, Rhodophycin, Orygmaeasäure, Endococcin, Blasteniasäure.

Blaue Verbindungen: Patellarsäure, Diploschistensäure.

Blaugrüne (spangrüne) Verbindungen: Olivetorsäure.

## 2. Chlorkalk, $\text{Ca}(\text{ClO})_2$ .

Man verwende eine Lösung, bestehend aus 1 Gewichtsteil Wasser und 2 Gewichtsteilen Chlorkalk. Die Lösung ist im Finstern aufzubewahren und von Zeit zu Zeit zu erneuern.

Mit Chlorkalk geben:

Blutrote, karmoisinrote oder rotviolette Färbungen: Lecanorsäure, Erythrinsäure, Erythrin, Olivetorsäure, Gyrophorsäure, Alectorialsäure, Glabratsäure, Betaerythrin, Porinsäure, Olivaceasäure, Olivacein und Stiktinin.

Grüne Färbungen: Pulverarsäure, Streptilin- und Porphyrilsäure.

Blaue Färbungen: Diploschistensäure und Patellarsäure.

## 3. Kalilauge, KOH.

Man verwendet gewöhnlich eine 30 bis 50proz. Lösung, am besten eine 50proz., da die Flechtensäuren in einer verdünnten Lösung zu rasch weggelöst werden und ihre Verteilung dann weniger leicht beurteilt werden kann. Handelt es sich um die Feststellung des Sitzes, so leistet Barytwasser bessere Dienste, da sich ein Niederschlag bildet.

In Kalilauge lösen sich:

Mit gelber Farbe: Atranorsäure, Thamnolsäure, Evernsäure, Ramalsäure, Stereocaulsäure, Hirtellsäure usw.

Mit purpurroter Farbe die Anthracenderivate: Physcion, Solormsäure, Nephromin, Fragilin, Rhodophycin, Endococcin und Blastenin.

## 4. Kalilauge und Chlorkalk.

Bekanntlich erleiden Flechtensäuren leicht eine Spaltung, so z. B. durch Kalilauge. Wenn daher gewisse Flechten direkt mit Chlorkalklösung keine Farbenreaktion geben, sondern erst nach vorhergehender Behandlung mit Kalilauge, so ist dies so zu erklären, daß die betreffenden Flechtensäuren durch das Alkali in Verbindungen gespalten werden, die sich mit Chlorkalk rot, violett oder orange färben. Schnitte durch *Pertusaria faginea* werden bei dieser Behandlung violett, weil die vorhandene Pikrolicheninsäure eine Spaltung in eine orcinähnliche Substanz erfährt.

## 5. Schwefelsäure.

Salacinsäure, Usnarsäure und Skopulorsäure färben sich mit konzentrierter Schwefelsäure anfänglich insensiv gelb, dann rot. Auch die entsprechenden Gewebe zeigen diese Färbungen, doch wird man bei Anwendung dieser Reaktion gewöhnlich nichts Sicheres über die

Verteilung der Flechtensäuren sagen können, weil die Schwefelsäure die Gewebe zerstört.

Durch vielfache Anwendung der angeführten Reagentien wurde erkannt, daß die Abscheidung der Flechtensäuren durch den Thallus und durch das Fruktifikationsgewebe erfolgen kann. Im Thallus tritt die Sekretion entweder nur in der Rinde oder nur im Mark oder — und das ist der gewöhnliche Fall — in beiden auf. Nur in der Rinde erscheinen Vulpin-, Rhizocarp-, Usnin-, Atranor-, Thamnol-, Aleotorialsäure und Physcion. Nur im Mark treten auf: Solorin-, Pinastrin-, Olivetor-, Gyrophor-, Evern-, Ramal-, Barbatin-, Lecanor-, Glabratsäure und andere. Im Mark und in der Rinde findet sich die Salacinsäure bei *Placidium alpinum*.

Die Schlauchfrüchte (Apothecien) lassen bekanntlich außer der Apothecienhülle noch drei Gewebe unterscheiden: die Schlauchschicht oder das Hymenium, das subhymeniale Gewebe und das Hypothecium. Von allen diesen Geweben können Flechtensäuren abgeschieden werden. Im Hymenium sezernieren hauptsächlich die Enden der Paraphysen.

Es sollen nun im folgenden einige Flechtensäuren behandelt werden, um an diesen Beispielen darzutun, welche Mittel wir, abgesehen von den bereits angeführten Farbenreaktionen, derzeit besitzen, um die Flechtensäuren mikrochemisch nachzuweisen. Ich bemerke, daß sich hier für den Mikrochemiker ein noch weites Feld eröffnet, das erst urbar gemacht werden muß, da wir vielfach noch ganz am Anfange stehen. SENFT (I, II) hat hier das Ölverfahren und die Mikrosublimation angewendet und damit Erfolge erzielt, und ich bin überzeugt, daß namentlich die letzte Methode bei ausgedehnter und vorsichtiger Anwendung noch zu weiteren Ergebnissen führen wird. Bevor ich auf die einzelnen Flechtensäuren eingehe, soll noch vorher das Ölverfahren kurz besprochen werden.

Das Ölverfahren (SENFT I). Die meisten Flechtensäuren lösen sich in heißem Öl und kristallisieren beim Abkühlen wieder in charakteristischen Formen heraus. Unter den fetten Ölen empfiehlt sich hierzu ganz besonders wegen seiner Farblosigkeit das Knochenöl. Das Verfahren bietet den Vorteil, daß 1. für den Versuch ein winziges Stück des Flechtenthallus genügt, 2. daß das Verfahren auch dort verwertet werden kann, wo mehrere Flechtensäuren nebeneinander vorkommen, und 3. daß die Präparate auch dauernd aufbewahrt werden können. SENFT beschreibt sein Verfahren wie folgt: „Um den Nachweis von solchen öllöslichen Flechtensäuren zu erbringen, wird ein Thallusstückchen, bei den Krusten- und Laubflechten am besten vom Rande der im Wachstum begriffenen Ränder oder, wo sorediöse Bildungen vorkommen, auch solche auf dem Objektträger in einem entsprechend großen Tropfen des Knochenöls mittels einer Lanzette oder eines Skalpells möglichst fein zerschnitten und zermalmte, indem man zum Schluß das Präparat mit der flachen Seite des Instrumentes mit dem Öle zu einem Brei verreibt. Sollte danach zu wenig Flüssigkeit zurückbleiben, so wird noch ein Tropfen Öl zugesetzt. Darauf wird das Präparat mit einem nicht zu dünnen Deckgläschen bedeckt und über einer kleinen Flamme längere Zeit, aber mit kurzen Unterbrechungen erhitzt, wobei man unter Austritt von Luftbläschen meist auch eine Verfärbung des Öles wahrnehmen können. Darauf

wird das Präparat gequetscht und etwas seitwärts verschoben, so daß das Deckglas an einer Seite an dem Objektträger vollkommen anliegt, an der anderen durch nicht genügend zerkleinerte Flechtenstückchen etwas gehoben bleibt. Eventuell kann das Deckgläschen an einer Seite durch einen untergelegten Papierstreifen gehoben werden. Auf diese Weise sammelt sich die Flüssigkeit an einer Seite des Gläschens, und die größeren, das Bild störenden Partikelchen bleiben seitwärts. Das dorum hergestellte Präparat taugt in den meisten Fällen nicht sofort zur Untersuchung, da die Flechtensäuren langsam auskristallisieren; es ist im allgemeinen zu empfehlen, das Präparat erst nach ungefähr einem Tag zu besichtigen. Bei einem reichen Gehalte an Flechtensäuren wird meist ein kleines Stück der Flechten zur Untersuchung ausreichen; sollte jedoch trotzdem ein solcher Versuch negativ ausfallen, so empfiehlt es sich, ein größeres Quantum der Flechte vorerst mit einem geeigneten Lösungsmittel: Chloroform, Benzol, Alkohol oder dergleichen in der Hitze zu extrahieren (einfach in der Epröuvette zum Sieden zu erhitzen), zu filtrieren, auf einem Uhrglas zu verdunsten und etwas von dem vollkommen trockenen Öldampfückstande, wie oben angegeben, mit fettem Öl, umzukristallisieren.“

#### a) Flechtensäuren der Methanreihe

##### a) Pulvinsäurederivate

Sie zeichnen sich insgesamt durch lebhaft gelbe, orangerote und mitunter auch rote Farbe aus und bedingen die auffallende Färbung vieler Flechten.

##### Vulpinsäure, $C_{10}H_{14}O_5$

##### Vorkommen

*Cyphellum chryscephalum* Ach., *Calocium chlorinum* Körber (Leprariaform), *Evernia vulpina* L., *Cetraria tubulosa* Schaerer und *C. pinastri* Scop.

Eigenschaften. Die Vulpinsäure hat in Masse eine zitrongelbe Farbe. Aus Äther oder Alkohol kristallisiert sie in schmalen Prismen, aus Benzol oder Chloroform in kurzen, dicken Platten. Monoklin. In Wasser ist sie so gut wie unlöslich, in Alkohol und Äther schwer, in Benzol etwas leichter und in Chloroform und Schwefelkohlenstoff reichlich löslich.

##### Nachweis.

1. SENFT erhielt durch Umkristallisieren in Öl schöne zitrongelbe Blättchen, die sehr polymorph und häufig zu größeren Gruppen, mitunter zu Rosetten angeordnet sind.

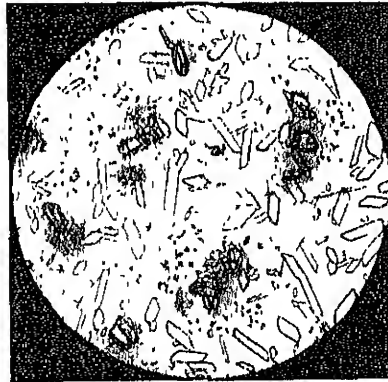


Fig. 67.

Vulpinsäurekristalle, durch Sublimation direkt aus der Flechte *Evernia vulpina* gewonnen. Vergr. 180



2. Durch Mikrosublimation erhielt ich aus *Evernia vulpina* einen Anflug von verschiedenen gelben, meist wohl ausgebildeten Kristallen: Nadeln, Prismen, Plättchen, Rauten, Zwillingen usw. (Fig. 67).

### Calicin, $C_{18}H_{12}O_6$ .

#### Vorkommen.

*Lepraria candellaria* Schaer., *L. chlorina* Ach., *L. chlorina* Stenh. und. *L. lava* (Schreb.) f. *querina* Zopf., *Chrysothrix nolitangere* Mont.

**Eigenschaften.** Aus Alkohol stellt es feine Nadeln, aus Benzol, Chloroform oder Eisessig schmale Prismen von ziegel- bis chromroter Farbe dar. Rhombisch. Schmelzpunkt  $242^\circ$ . Bei höherer Temperatur sublimiert es unverändert und bildet rote feine Prismen. Alkohol, Äther, Petroläther und Eisessig löst in der Kälte schwer, in der Wärme etwas besser. Chloroform sowie Benzol lösen bei Erwärmung reichlich.

#### Nachweis.

1. Nach ZOPF (I, 85) ist es möglich, in sehr kleinen Fragmenten calicinhaltiger Flechtenorgane das Calicin nachzuweisen, wenn man sie in einen kleinen Tropfen Chloroform einlegt, das Calicin leicht löst und dann Kali, Natronlauge oder Barytwasser zusetzt. Es bildet sich dann das entsprechende, intensiv rote calicinsäure Salz.

Aus heißem Öl kristallisiert das Calicin nach SENFT (III) beim Abkühlen in dünnen, meist beiderseits zugespitzten, orangegelben Nadeln, entweder einzeln oder zu Rosetten gruppiert.

### Stictaurin.

#### Vorkommen

*Sticta aurata* Ach., *flavicans* Hook., *orygmaea* Ach., *impressa* M., *Desfontainae* var. *munda* Dl., *glaucoaurida* Nyl., *Stictina crocata* L., *gilva* Thunbg., *Candellaria concolor* Dicks., *vitellina* Nyl., *Gyalolechia aurella* Hofm.

**Eigenschaften.** Aus Äther erhält man durch langsames Auskristallisieren breite, dünne, bis zu 2 mm lange Täfelchen von goldähnlichem Metallglanz und orangeroter bis hellrotbrauner Farbe. Aus der heißgesättigten, rasch erkaltenden ätherischen Lösung fallen feine Nadelchen aus, die unterm Mikroskop als schmale rhombische Prismen resp. Täfelchen erscheinen. Über ihre optischen Eigenschaften vgl. man LÜDECKE in ZOPF (I, 87). Stictaurin löst sich leicht in Chloroform, Benzol und Schwefelkohlenstoff, schwer in absolutem Alkohol, Äther, Eisessig, gar nicht in Wasser, konzentrierten Mineralsäuren und kalten Alkalien.

**Nachweis.** SENFT (I) gewann aus heißem Öl das Stictaurin in langen derben, orange gefärbten, meist zu lockeren Rosetten verbundenen, an beiden Enden gewöhnlich abgestumpften Formen. Außerdem in Spindelkörpern mit rauher Oberfläche und in kugeligen Massen von kristallinischer Struktur.

**Sitz.** Das Stictaurin wird bei *Sticta aurata* im Mark und an den Soredienrändern gebildet und verleiht diesen Teilen ihre dottergelbe Farbe. Hingegen scheiden *Candellaria concolor*, *vitellina*, *mediana*

und *Gyalolechia aurella* den Stoff in der Rinde des Thallus und der Fruchte ab, wodurch ihre dottergelbe Farbe bewirkt wird.

### Rhizocarpsäure, $C_{20}H_{22}O_7$ .

#### Vorkommen.

*Rhizocarpon geographicum* L., *Rh. viridiatum* Flke., *Calycium hyperellum* Ach., *Acolium ugillare* Ach., *Catocarpus oreites* Wainio, *Biatora lucida* Ach., *Rhaphiospora flavorescens* Borr. und *Pleopsidium chlorophanum* Wahlbg.

**Eigenschaften.** Aus Äther oder Alkohol erhält man lange zitrongelbe Prismen vom Schmelzpunkt 177 bis 179°. Kalter Alkohol löst schwer, Äther, Eisessig besser, Benzol, Chloroform und Schwefelkohlenstoff sehr leicht. Schwefel- oder Salpetersäure lösen mit gelber, Ätz- und kohlensaure Alkalien mit gelber bis gelbgrüner Farbe.

**Nachweis.** Aus heißem Öl erhält man nach SENFT intensiv zitrongelbe oder goldgelbe Kristalle von verschiedenen Typen: Prismenrosetten, Büschel, Fächer, Bäumchen und andere. Die Kristalle sind nach dem oberen Ende meist verbreitert.

**Sitz.** Die Säure findet sich bei den genannten Flechten, die eine Differenzierung in Rinde und Mark zeigen, stets nur in der Rinde abgesondert und verleiht den betreffenden Arten eine lebhaft schwefel-, zitrongelbe oder gelbgrüne Färbung.

### Pinastrinsäure, $C_{13}H_{14}O_6$ .

#### Vorkommen.

*Cetraria pinastri* Scop., *tubulosa* Schreb. und *Leparia flava* Schreb.

**Eigenschaften.** Aus Äther oder Alkohol kristallisiert die Säure in Prismen und schmalen Platten, die in Massen goldgelb bis orangerot aussehen. Aus Chloroform erhält man rhombische Kristalle mit starkem Pleochroismus von Rotbraun nach Gelb. In Äther und Alkohol ist die Säure schwer löslich, besser bei höherer Temperatur, leicht löslich in Chloroform oder Benzol. Alkalien, deren Karbonate und konzentrierte Schwefelsäure lösen mit gelber Farbe.

**Nachweis.** Nach SENFT kristallisiert Pinastrinsäure aus heißem Öl in zitron- oder goldgelben, scharf zugespitzten Nadeln einzeln oder in Büscheln, Garben und Rosetten vom Aussehen des Phenylglykosazon. Manche dieser Kristalle sehen denen der Rhizocarpsäure ähnlich, von der sie aber leicht zu unterscheiden sind, da die Pinastrinsäurekristalle stets zugespitzt und nicht an dem einen Ende erweitert sind, wie die der Rhizocarpsäure.

**Sitz.** Die Cetrarien scheiden die Pinastrinsäure reichlich an den Hyphen des Markes sowie an den die Ränder des Thallus besetzenden Soredienhäufchen aus und erscheinen an diesen Stellen goldgelb.

### β) Acetylessigsäurederivate.

#### Usninsäure, $C_{18}O_{16}H_7$ .

#### Vorkommen.

Diese Säure findet sich in verschiedenen Familien vor, die den Gruppen der Parmeliales und Lecideales angehören. Man hat bereits bei 70 Arten die Usninsäure

festgestellt, z. B. bei *Cladonia silvatica* L., *Cladonia digitata* L., *C. bellidiflora* Ach., *Binaria lucida* Ach., *Rhizocarpon geographicum* L., *Usnea hirta* L., *Alectoria sarmentosa* Ach., *Ramalina fraxinea* L., *Evernia prunastri* L., *Parmelia conspersa* usw.

**Eigenschaften.** Aus Benzol und Chloroform kristallisiert die Usninsäure bei langsamem Auskristallisieren in breiten, relativ dicken Platten von zitrongelber Farbe, die dem rhombischen System angehören (KAPPEN in ZOPF I, 105). ZOPF erhielt aus schwachem Alkohol sehr dünne elliptische Blättchen, aus Äther schmale Prismen. Unlöslich in Wasser, kaum oder schwer löslich in kaltem Alkohol und Äther, gut löslich in heißem Eisessig, Benzol und Chloroform. In Ammoniak löst sie sich schwer, in Kalilauge und Barytwasser leichter mit gelber Farbe, die beim Erwärmen in Braun übergeht. Durch Spuren von Eisenchlorid wird sie rot bis rotbraun. Es gibt drei verschiedene, aber gleich zusammengesetzte Modifikationen der Usninsäure, eine rechts-, eine linksdrehende und eine inaktive.

**Nachweis.** Aus heißem Öl erhält man nach SENFT die Usninsäure in säulenförmigen, meist rechtwinklig abgestutzten Kriställchen; mitunter finden sich auch Formen, die an einem Ende nadelförmig zugespitzt, schief abgestutzt oder abgerundet sind. Die Kristalle sind entweder einzeln oder zu Rosetten vereinigt und haben eine blaß-grüne Farbe.

## b) Flechtensäuren der Benzolreihe.

### a) Anthrazenderivate.

Diese, sich von dem Kohlenwasserstoff Anthrazen ableitenden Flechtensäuren zeichnen sich durch zitronen-, ocker-, goldgelbe, gelbbraune-, orange, zinnober-, chrom-, rubinrote, rotbraune oder violettbraune Farbe aus, geben mit Ätzalkalien purpurne bis violette, selten bräunlich-rötliche, mit konzentrierter Schwefelsäure purpurne, gelbrote oder grüne Lösungen und mit Kalk- oder Barytwasser purpurne, purpurviolette oder violette, seltener braune, in Wasser unlösliche Verbindungen.

Es gehören dazu:

1. Physcion oder Parietin, 2. Solorinsäure, 3. Nephromin<sup>1)</sup>, 4. Orygmaeasäure, 5. Rhodophyscin, 6. Fragilin, 7. Endococcin, 8. Blasteniasäure, 9. Hymenorhodin und 10. Rhodokladonsäure. — ZOPF (I, 303) hat für diese Stoffe folgende Bestimmungstabelle angegeben:

A in konzentrierter Schwefelsäure mit anfänglich purpurner, bald aber grün werdender Farbe löslich.

1. in Sodalösung unlöslich: Endococcin.

2. „ „ löslich: Rhodophyscin.

B in konzentrierter Schwefelsäure mit purpurner oder himbeerroter, nicht grün werdender Farbe löslich.

1. in doppelkohlensaurem Natron löslich Orygmaea-, Blastenia-, Rhodokladonsäure.

2. in doppelkohlensaurem Natron unlöslich:

1) Früher mit Emodin verwechselt (Bachmann IV).

- a) in Natronlauge unlöslich: Hymenorrhodin;
- b) in kalter Sodalösung unlöslich: Fragilin, Physcion;
- c) in kalter Sodalösung löslich: Solorinsäure, Nephromin.

Physcion (Parietin),  $C_{16}H_{12}O_6$ .

Für dieses Anthrazenderivat gab sich schon lange bei den Chemikern ein großes Interesse kund. Es wurde mit verschiedenen Namen bezeichnet: Parmelgelb (SCHRADER), Chrysophansäure (ROCHLEDER und HELDT), Parietin (THOMPSON und ZOFF), Physciasäure (PATERNO), Chrysophyscin (LILIENTHAL) und Physcion (HESSE).

Vorkommen. Das Physcion wurde bisher nur in der Familie der Theloschisteen nachgewiesen, und zwar bei: *Xanthoria parietina* L., *X. polycarpa* Ehrh., *X. lychnea* Ach. var. *pygmaea* Borr., *Theloschistes flavicans* Sw., *Placodium cirrhochromum* Ach., *P. elegans* Lk., *P. murorum* Hoffm., *P. decipiens* Arn., *P. sympageum* Ach., *Fulgensia fulgens* Sw., *Calloporisma flavovirescens* Hoffm. und *C. Jungermanniae* Vahl. Siehe ZOFF (I).

Eigenschaften. Kristallisiert aus heißer, gesättigter Benzollösung beim allmählichen Verdunsten in strahligen Aggregaten von goldgelber Farbe, bei der Sublimation in gelben Nadeln und Blättchen. Es löst sich im allgemeinen langsam, am raschesten noch in Chloroform, dann in absteigender Reihenfolge in Aceton, Benzol, Eisessig, Schwefelkohlenstoff, Äther, Petroläther und abs. Alkohol. Im Wasser ist es so gut wie unlöslich. Schmelzpunkt etwa 207°.

Wässrige kohlensaure Alkalien lösen in der Kalte so gut wie nicht, verdünnte Kali- oder Natronlauge lösen leicht mit blutroter Farbe, ebenso Schwefelsäure.

Nachweis. Genaue Angaben über den mikrochemischen Nachweis verdanken wir SENFT (I). Er untersuchte mikrochemisch das reine, das rohe Physcion und die Flechte selbst.

a) Reines Physcion stellt unterm Mikroskop dünne, zitronengelbe, rechteckig abgestuzte Plättchen dar. Läßt man darauf 10% Kalilauge einwirken, so löst es sich mit kirschroter Farbe auf unter gleichzeitiger Bildung eines flockigen kristallinischen Niederschlags, der aus dünnen rotvioletten, zu Büscheln vereinigten Schüppchen besteht. Nach ½ Stunde oder später verschwinden sie und an ihrer Stelle entstehen 1  $\mu$  dicke und 7–30  $\mu$  lange Nadeln von der Farbe des Kaliumpermanganats.

b) Konz. Schwefelsäure löst das Physcion mit purpurroter Farbe, allmählich verblaßt die Färbung und nach etwa ½ Stunde



Fig. 68

Physcionkristalle, durch Sublimation direkt aus *Xanthoria parietina* gewonnen. Vergr. 180

entstehen kurze, gelbe, dünne, stark gebogene oder spiralg gedrehte Kristallfäden, die sich später zu Büscheln gruppieren. Sehr charakteristisch!

c) Der Sublimation unterworfen, bildet das Physcion einen dichten, gelben Anflug zuerst pulverig, dann aus gelben Nadeln und Plättchen bestehend.

d) Physcion kristallisiert aus heißem fettem Öl (am besten aus Knochen- oder Paraffinöl) nach längerer Zeit in gelben, häufig zu Garben und Büscheln angeordneten Nadeln und dünnen Blättchen.

e) Alkalische Erden. (Kalk, Baryt, Strontium) färben die Kristalle nach einiger Zeit purpurrot, wobei diese ihre Form und ihre Doppelbrechung behalten.

Die angeführten Reaktionen gelingen, falls die Flechte mit Physcion reichlich versehen ist, auch sehr gut mit Schnitten oder kleinen Fragmenten der Flechte selbst. Namentlich mit den durch Sublimation gewonnenen Kristallen treten sie in voller Reinheit auf. Die Sublimate

werden besonders deutlich, wenn man sie mit einer wässrigen Lösung von kohlenstoffsaurem Ammonium behandelt. Jeder Kristall färbt sich rot und tritt ungemein scharf hervor (Fig. 68).

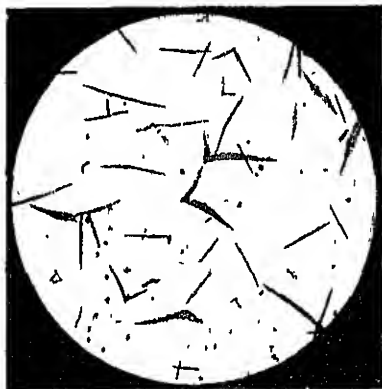


Fig. 69.

Solorinsäurekristalle, durch Sublimation direkt aus der Flechte *Solorina crocea* gewonnen. Vergr. 180.

### Solorinsäure, $C_{15}H_{14}O_4$ .

#### Vorkommen und Sitz.

Die alpine Flechte *Solorina crocea* L. zeigt auf der Unterseite des Thallus eine orangefarbene Färbung, die von Solorinsäure herrührt. Der Farbstoff sitzt in Form eines feinkörnigen mehr oder minder homogenen Überzuges den Hyphen auf

**Eigenschaften.** Bildet rote glänzende Kriställchen, die in größerer Menge rubinrot, mit einem Stich ins Braune erscheinen. Sech-

seitige Blättchen mit den Flächenwinkeln  $135^\circ$ ,  $84^\circ$  und  $141^\circ$ , pleochroitisch, monoklin (?). Aus heißer Benzollösung erhält man feinste Nadelchen.

Unlöslich in kaltem und heißem Wasser, sehr schwer löslich in Äthylalkohol, Methylalkohol, Äther, besser in Chloroform und Benzol mit rotgelber oder rotbrauner Farbe.

Kali- und Natronlauge lösen mit violetter, Ammoniak und kohlenstoffsaure Alkalien in der Kälte schwer mit purpurvioletter Farbe. Baryt- und Kalkwasser bilden unlösliche, dunkelviolette Verbindungen. Selbst eine so schwache Säure wie die  $CO_2$  fällt aus den alkalischen Lösungen die Substanz wieder aus. Konz. Schwefelsäure löst mit purpurner bis violetter Farbe, die nicht grün wird (Zorr I, 311).

**Nachweis.** Alle die erwähnten Farbenreaktionen gelingen auch mit dem Farbstoff auf den Hyphen selbst.

Bei der Sublimation erhält man entweder gelbe bis orangerote Tröpfchen, aus denen bei langsamer Abkühlung der Farbstoff gewöhnlich in Form von orangeroten Schollen, Blättchen oder Dendriten ausfällt. Oder es treten direkt orangerote Kristalle auf: Nadeln, Prismen, winkel-, säbel- und schwertartige Formen, oft von bedeutender Größe (Fig. 69).

### Rhodocladonsäure, $C_{15}H_{10}O_8$ .

#### Vorkommen.

In den scharlachroten Schlauchfrüchten von *Cladonia Flörkeana* Fr., *macilenta* Hoffm., *digitata* Schaer., *incrassata* Flörke, *coccifera* L., var. *pleurota* Flörke, var. *stematina* Ach., var. *extensa* Ach., *bellidiflora* Ach., *deformis* Hoffm., *baccilaris* Nyl var. *clavata* (Ach.) Wainio. Siehe Zopf (I, 321).

Eigenschaften. Aus Eisessig erhält man beim langsamen Auskristallisieren breite, verkehrt keilförmige Blättchen, beim raschen Auskristallisieren lange, schmale, dolchartige Blättchen, aus Chloroform kurze rechtwinklig oder nahezu rechtwinklig abgestumpfte mennigrote Blättchen. Die Auslöschungsrichtung der Blättchen oder der keilförmigen Platten ist parallel und senkrecht zur Längsrichtung. Nicht pleochroitisch. Äther löst kaum, kalter abs. Alkohol, Benzol oder Aceton sehr schwer. Verdünnte Kali- oder Natronlauge und die entsprechenden Karbonate lösen mit bräunlich-rötlicher bis purpurvioletter und Schwefelsäure mit intensiv himbeerroter Farbe.

Nachweis und Sitz. Untersucht man die auffallend roten Askushymenien von *Cladonia bellidiflora*, so findet man in einer dünnen äußersten Schicht die Hyphen mit orange- bis braunroten Körnchen bedeckt, die die eben angeführten Farbenreaktionen geben. Sublimiert man die roten Fruktifikationsorgane, so erhält man blaßgelbe Kristalle: Nadeln und schief abgestutzte Prismen von den Eigenschaften der Rhodocladonsäure.

Weitere Angaben über den mikrochemischen Nachweis der Rhodocladon- und Solorinsäure findet man bei SENFT (IV).

#### β) Orcinderivate.

Es gibt eine große Reihe von Flechtensäuren, die bei Behandlung mit Wasser, Alkalien, alkalischen Erden, Eisessig und anderen Substanzen Orcin oder diesem nahe verwandte Stoffe wie Betaorcin, Dimethylphendiol, Orselinsäure u. a. abgespalten.

Das Orcin  $C_7H_6O_2$  ist ein farbloser, in Prismen vom Schmelzpunkt 56—57° kristallisierender Körper, der bei Gegenwart von Sauerstoff und Ammoniak sich in Orcein,  $C_{28}H_{21}N_2O_7$ , umwandelt. Dieser Körper stellt ein braunes Pulver dar, das aus wässrigem Alkohol kleine Kriställchen liefert. Er löst sich in Alkohol mit karminroter Farbe und färbt sich mit Ammoniak, Alkalien und Alkalikarbonaten blauviolett. Das Orcein bildet den wesentlichen Bestandteil der technisch verwendeten Orseillefarbstoffe, worüber man die zusammenfassenden Darstellungen von KRASSER (I) und RUPE (I) vergleiche. Hier sei nur kurz folgendes hervorgehoben.

Das ältere Verfahren der Orseillegewinnung bestand darin, daß man die Flechten mit Urin übergießt, faulen ließ und schließlich Ätzkalk hinzufügte. Bei der eintretenden Gärung, an welcher Bakterien beteiligt sind, wird der Harnstoff des Urins in kohlen saures Ammon übergeführt und dieses wirkt spaltend auf die Flechtensäuren ein, wobei Orcin und weiters Orcein entsteht. So meint ZOFF (I, 387), während CZAPEK (II) der Ansicht ist, daß nicht das Ammoniak, sondern eine im Harn vorkommende, dem Heubacillus ähnliche Bakterie die Spaltung der Flechtensäuren in Orcin bewerkstelligt.

Ähnlich ist das Verfahren bei der Bereitung des Lackmus. Die Gärung wird bei gleichzeitiger Anwesenheit von Kalk oder Pottasche und Ammoniak sehr lange in Gang erhalten. Es entsteht hierbei aus den Flechten (*Rocella*) ein mit Orcein verwandter stickstoffhaltiger Körper, das Lackmus, welches bei der Analyse bekanntlich eine sehr wichtige Rolle spielt.

Für die Darstellung der Orseille kommen in der Praxis nur wenige Spezies von Farbflechten in Betracht. Es gehören hauptsächlich hierher: *Rocella fuciformis* (L.) DC., *Montagnei* Ból., *portentosa* Mtg., *tinctoria* DC., *phycopsis* Ach. u. a. Zur Erkennung der orceinliefernden Flechten kann man mit Vorteil die Homofluoresceinprobe verwenden. Sie beruht darauf, daß Orcin beim Erwärmen mit Chloroform und Ätzalkalien einen Farbstoff, das Homofluorescein liefert, dessen alkalische Lösung im durchfallenden Lichte rotgelb erscheint, im auffallenden aber gelbgrün fluoresziert. Zur Ausführung der Reaktion erwärmt man Stückerchen der fraglichen Flechte mit verdünnter Kalio- oder Natronlauge, erzeugt hierdurch Orcin, das nun bei Zusatz eines Tropfens Chloroform und längerem Erwärmen im Wasserbade den Farbstoff und seine Fluoreszenz ergibt (SCHWARZ I). Von den Orcin liefernden Flechtensäuren sei hier behandelt die:

#### Lecanorsäure, $C_{16}H_{14}O_7$ .

##### Vorkommen.

In *Rocella tinctoria* L., *canariensis* Darbish., *portentosa* Montg., *stans* Nyl., *Peltusaria lactea* Nyl., *Parmelia tinctorum* Despr. und anderen.

Eigenschaften. Aus Äther oder Alkohol kristallisiert Lecanorsäure in feinen, weißen, zumeist zu Rosetten vereinigten Nadelchen. Leicht löslich in Aceton, heißem Alkohol und heißer Essigsäure, weniger leicht in heißem Äther. Die alkoholische Lösung wird durch Chlorkalk blutrot und durch eine Spur Eisenchlorid purpurrot. Die feste Substanz wird durch Chlorkalk gleichfalls blutrot, später aber nicht blau. Barytwasser färbt weder blau noch blaugrün. — Wird Lecanorsäure gekocht, so entsteht nach SCHUNCK anfanglich Orsellinsäure  $C_{16}H_{14}O_7 + H_2O = 2C_8H_8O_4$  und bei andauerndem Kochen wird diese in Orcin und Kohlensäure umgewandelt. Vollständiger und rascher treten diese Zersetzungen beim Kochen mit Lösungen der Ätzalkalien und der alkalischen Erden ein (ZOFF I, 134).

Nachweis. Die Chlorkalkreaktion läßt sich mit der Flechte direkt ausführen. Wird ein Schnitt z. B. durch den Thallus von *Rocella tinctoria* mit einer Chlorkalklösung betupft, so färbt er sich augenblicklich blutrot. — Man kann auch, wie ich gefunden habe, die

Lecanorsäure direkt aus der Flechte am Objektträger zum Auskristallisieren bringen, wenn man einige Thallusstücke untorm Deckglas mit Alkohol versieht und ihn verdampfen läßt. Es bilden sich dann oft am Rande des Deckglases neben formlosen Krusten zahlreiche Nadel- oder Spießrosetten von Lecanorsäure.

Mit der Lecanorsäure verwandt ist das Erythrin,  $2C_{20}H_{22}O_{10}$ . Es wurde bisher in *Rocella Montagnei* Bell, *fuciformis* L., *peruensis* Kremph. und *phycopsis* Ach. nachgewiesen (ZOPF I, 142). Erythrin verhält sich gegenüber Chlorkalk und Eisenchlorid wie Lecanorsäure. Da auch noch zahlreiche andere Flechtensäuren mit Chlorkalk rote oder ähnliche Färbungen geben (vgl. p. 207), so darf nicht ohne weiteres aus einer Rotfärbung auf eine bestimmte Säure geschlossen werden. Dies ist nur dann erlaubt, wenn die Makroanalyse nur eine Flechtensäure, die mit Chlorkalk eine rote Färbung gibt, in der Flechte dargestellt hat.

### c) Nicht kristallisierende Flechtenfarbstoffe.

Neben den Flechtensäuren, die sich gewöhnlich durch gute Kristallisationsfähigkeit auszeichnen, gibt es noch eine Anzahl nicht kristallisierender Farbstoffe, die entweder den Membranen eingelagert sind (Membranfarbstoffe) oder tröpfchenartige Inhaltskörper der Hyphen bilden (*Racomycetes roseus* Pers.) oder den Membranen als amorphe Exkretmassen aufgelagert erscheinen. Um die Kenntnis dieser Farbstoffe hat sich namentlich BACHMANN (I, II, III) verdient gemacht, indem er auf das Vorkommen dieser Farbstoffe nachdrücklich hinwies und sie mikrochemisch nachzuweisen versuchte. Von amorphen Farbstoffexkreten hat BACHMANN zwei beobachtet, das Arthoniaviolett und das Urcellariarot.

Das Arthoniaviolett findet sich in allen Teilen von *Arthonia gregaria*. Es ist in Kalk- und Barytwasser unlöslich, in kaltem Wasser wenig, in heißem dagegen leicht löslich, Alkohol gibt eine weinrote, Kalilauge eine violette, Salpetersäure eine rote und Schwefelsäure eine indigblaue, zuletzt malvenbraune Lösung.

Urcellariarot kommt im Thallus der *Urcellaria ocellata* DC. vor. Der Farbstoff bedeckt die Hyphen des locker-filzartigen Markes in Form kleiner runder Flecken und dringt wahrscheinlich auch in die Membranen bis zu einer gewissen Tiefe ein. Er bleibt in Alkohol unverändert, in Kalilauge, Barytwasser, starker Salpeter- und Schwefelsäure wird er mit gelbbrauner Farbe gelöst. Chlorkalk entfärbt, Kalkwasser und Ammoniumkarbonat bringen keine Veränderungen hervor.

Leider steht bei den von BACHMANN behandelten Farbstoffen die makrochemische Analyse noch aus, wir kennen von diesen Farbstoffen meist nur den Namen und ein paar äußere Kennzeichen. Da aber diese und gewisse Farbenreaktionen namentlich für den Flechtensystematiker doch von Wichtigkeit sind, so kann ich hier darüber nicht ganz hinweggehen und will wenigstens eine tabellarische Übersicht [s. p. 218 und 219] (BACHMANN I, 52; FÜNFSTÜCK I) über diese Farbstoffe mitteilen. BACHMANN hat 120 Flechtenarten untersucht und 19 Membranfarbstoffe charakterisiert. Sie sind gewöhnlich nicht im ganzen



d) Reaktionen nicht kristallisierter Flechtensubstanzen.

Name des Farbstoffes bzw. der farbstoffführenden Flechte	Aussehen des Farbstoffes	KOH	NH <sub>3</sub>	HNO <sub>3</sub>	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	Weitere Reaktionen:
Lecideagrün . . . . .	grün	—	—	kupfer- bis weinrot	—	erst KOH, dann HCl: blau
Aspiclagrün . . . . .	grün	—	—	—	—	HNO <sub>3</sub> : lebhafter und reiner grün
Bacidiagrün . . . . .	grün	—	—	violett	violett	HCl: violett
Thalloidiagrün . . . . .	grün	violett	—	undeutlich purpurrot	undeutlich purpurrot	HCl: undeutlich purpurrot
Rhizoidagrün . . . . .	bläulichgrün	olivengrün bis braun	—	olivengrün	—	—
Biatora atrofusca . . . . .	blau	löst mit grün-blauer Farbe	—	violett, dann gelb, endlich Entfärbung	löst auf	—
Lecidea enteroleuca, L. platycarpa, L. Vulcani, Biatora turgidula, Bimbia melana, die Oberfläche der Frische	blau	blaugrün bis olivengrün	blaugrün bis olivengrün	kupferrot	—	—
Phialopsis rubra . . . . .	ziegelrot	färbt trüb purpurrot	färbt trüb purpur	violett	—	—
Lecanorot . . . . .	purpurrot	färbt tief violett	färbt tief violett	färbt heller	—	—
Sagedia declivum . . . . .	bläulichrot	blau (grün)	erst grünblau, dann grauschwarzlich	—	—	Ba(OH) <sub>2</sub> : blau

Name des Farbstoffes bzw. der farbstoffführenden Flechte	Ausssehen des Farbstoffes	KOH	NH <sub>3</sub>	HNO <sub>3</sub>	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	Weitere Reaktionen.
<i>Verrucaria Hoffmanni</i> f. <i>purpurascens</i> . . . . .	rosenrot	—	dunkelgrün	—	—	erst KOH, dann HNO <sub>3</sub> , dann H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> : violette Kristalle
<i>Cladonia coccifera</i> , Apothecienkopfe . . . . .	scharlachrot	—	braun	—	entfärbt	aus der wäss. Lösung schlägt Eisessig purpurrote Flocken nieder
<i>Bacidia fusco rubella</i> . . . . .	gelbbraunlich	—	violett	—	—	—
<i>Lecidea crustulata</i> , L. <i>granulata</i> , <i>Buellia parasema</i> , B. <i>punctata</i> , <i>Opegrapha saxicola</i> , O. <i>aura</i> , <i>Atrichia obscura</i> , A. <i>vulgaris</i> , <i>Bactrospora dryina</i> , <i>Sarcogyne pruinosa</i> , Apothecien . . . . .	braun	farbt dunkler	—	—	—	Ca(OCl) <sub>2</sub> entfärbt schließlich vollständig
<i>Sphaeromphale cloptismoides</i> . . . . .	lederbraun	intensiv olivengrün	—	—	—	erst KOH, dann H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> , dann HNO <sub>3</sub> : schwärzlich
<i>Segestria lectissima</i> , <i>Penthetecia</i> . . . . .	gelbbraun	morgens rot	—	hellgelb	—	verdünnte H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> : hellgelb
<i>Segestria lectissima</i> , das übrige Gewebe . . . . .	braun und farblos	—	—	—	—	konz. H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> : intensiv violett, schließlich grau
<i>Parmelia glomellifera</i> . . . . .	lederbraun	—	—	blau, dann violett, endlich grau	—	Ca(OCl) <sub>2</sub> : erst blau-grün, dann unscheinbar grau
<i>Parmeliabraun</i> . . . . .	gelb- bis schwarzbraun	schmutzig- bis dunkelbraun	—	hell rotbraun	—	—

Thallus verteilt, sondern lokalisiert Fast immer in der Rinde. Die Hyphen der Gonidienschicht sind stets farblos. Im Apothecium kann das Epithecium, der thalloidische Rand, das Hypothecium und seltener das Hymenium Sitz des Farbstoffs sein. Im Hymenium sind nur die Paraphysen, nicht die Schläuche gefärbt. Innerhalb der Hyphenmembranen ist das Pigment zumeist ungleichmäßig verteilt und die Mittel-lamelle am reichlichsten mit Farbstoff versehen.

## 2. Pilzfarbstoffe.

Die Zahl der bei den Pilzen auftretenden Farbstoffe ist im Gegen-satz zu den höheren Pflanzen eine ungemein große (ZOFF II, NADSON I, ZELLNER I). Es eröffnet sich hier für den Chemiker ein weites Arbeitsfeld, denn die Chemie dieser Farbstoffe ist noch sehr wenig untersucht worden und von den meisten kennt man die chemische Zusammen-setzung nicht. Ich werde mich daher hier mit der Anführung einiger weniger Beispiele begnügen.

### Thelephorsäure.

#### Vorkommen.

Dieser von ZOFF (II, 69) untersuchte und benannte Farbstoff findet sich in einigen zu den Basidiomyceten gehörigen Thelephora-Arten, *Th. palmata* Scop., *flabelliformis* Fr., *caryophylla* Schöff., *terrestris* Ehrh., *coralloides* Fr., *crustacea* Schum., *intybacea* Pers., *laciniata* Pers. und außerdem bei den Stachelschwämmen *Hydnum ferrugineum* und *H. repandum*. Der Farbstoff inkrustiert die Membranen.

Eigenschaften. Kristallisiert aus heiß gesättigter alkoholischer Lösung in veilchen- bis indigoblauen Kriställchen und Drusen. Sie sind unlöslich in Wasser, Äther, Chloroform, Petroläther, Schwefelkohlenstoff und Benzol, ziemlich leicht löslich in Alkohol mit weinroter Farbe. Konzentrierte Schwefelsäure oder Salzsäure lösen weder, noch verfärben sie, hingegen lösen konzentrierte Essigsäure mit rosen- oder weinroter, Salpeter- und Chromsäure mit gelber Farbe. Alkalien lösen zwar nicht, verfärben aber; und zwar Alkalien ins Blaugrüne und Ammoniak, Ammonkarbonat und Soda ins Reinblaue.

### Xanthotrametin.

ZOFF (II, 85) hat diesen roten Farbstoff aus *Trametes cinnabarina* zuerst dargestellt.

Eigenschaften. Kristallisiert aus heißem Alkohol in großen, schon mit bloßem Auge sichtbaren roten Drusen und Einzelkristallen. Diese sind spindelförmig und schwach pleochroitisch-rotbraun bis rötlich gelb. Konzentrierte Salpetersäure löst mit tief orangeroter, konzentrierte Salzsäure mit orangegelber, konzentrierte Schwefelsäure mit rosenroter und Eisessig mit gelber Farbe. Ammoniak und Alkalien geben gelbe Lösungen.

Sitz. Der Farbstoff ist besonders den Hyphen des Hymeniums, aber auch denen der übrigen Hutteile in Form von körnigen, ziegelroten Überzügen aufgelagert, neben welchen sich auch ein gelber Farbstoff (Harzsäure) vorfindet.

### Chinonartiger Farbstoff.

An den Hyphen von *Paxillus atrotomentosus* kommt, kristallinisch aufgelagert, ein Farbstoff vor, den TIÖRNER (I) näher untersucht und dem er die Formel  $C_{11}H_8O_4$  gegeben hat. An der Oberfläche des Pilzes sind die Kristalle braun, im Innern schwach grau oder gelblich, an der Luft werden sie gleichfalls braun. Sie stellen nach TIÖRNER einen hydrochinonartigen Körper dar, der sich allmählich zu dem betreffenden Chinon umwandelt.

Eigenschaften. Aus kochendem Alkohol fällt der Farbstoff in dunkelbraunen, metallisch glänzenden Blättchen aus, die sich in kochendem Alkohol oder Eisessig mit schön weinroter, in Alkalien mit grüngelber Farbe lösen, hingegen sich in Wasser, Ligroin, Benzol, Chloroform und Schwefelkohlenstoff nicht lösen.

### Carotinartige Farbstoffe.

Bei zahlreichen Pilzen kommen Carotine (vergleiche über den Begriff Carotin das später Gesagte) vor, die ihnen eine gelbe, orange-rote oder rote Farbe verleihen. Wenn diese Farbstoffe in Fett gelöst auftreten, werden sie auch als Lipochrome bezeichnet. Sie geben mit konzentrierter Schwefelsäure die typische Carotinreaktion, eine Blaufärbung, und ZOFF (IV) konnte zeigen, daß hierbei auch blaue, kristallisierende Verbindungen entstehen.

*Staphylococcus rhodochrous* Z. besitzt eine prächtig rote Farbe. Läßt man zu einer Kolonie dieser Bakterie, die trocken zwischen Objektträger und Deckglas liegt, ein Tröpfchen konzentrierter Schwefelsäure zufließen, „so sieht man, wie in der Spaltpilzmasse nach kurzer Zeit rötliche Kriställchen auftreten, und zwar in auffälligen Zusammenhängungen von der Form lockerer Nester oder mehr dendritischer Gruppen, bisweilen von förmlichen Schollen, auch sternförmige Drusen oder eckige Körper entstehen mitunter. Allmählich färben sich nun die Kristalle ins Violette, dann ins Berberblau, schließlich ins Indigoblau um“ (ZOFF IV, 174). Noch zahlreiche andere gelbe, orangefarbene, rosafarbene Spaltpilze und Rosahefen enthalten Carotine. Die roten Carotine dürfen nicht mit den roten Farbstoffen (Prodigiosin) anderer Schizomyceten (*Bacterium prodigiosum*) verwechselt werden, die von den Carotinien ganz verschieden sind. Von Pilzen, die durch Carotine gefärbt sind, seien noch genannt *Peziza bicolor*, *Ascochelus pulcherrimus*, *Dacryomyces stillatus*, *Polystigma rubrum*, *Nectria cinnabarina* usw.

### Bacteriopurpurin.

Die Purpurbakterien haben bekanntlich ihren Namen von ihrer roten Farbe: purpurn, pfirsichblutrot, karminrot, violett, rosa, weinrot, braunrot usw. — MOLISEN (1) hat gezeigt, daß sich aus den von ihm untersuchten Purpurbakterien zwei Farbstoffe gewinnen lassen: ein grüner, das Bakteriochlorin und ein roter, das Bacteriopurpurin. Beide sind durch sehr charakteristische Spektren ausgezeichnet; der grüne ist verschieden von Chlorophyll und der rote, der sehr leicht in kristallisierter Form gewonnen werden kann, ist wahrscheinlich ein carotinartiger Körper.

## Nachweis.

Man kann sich auch mikrochemisch von der Anwesenheit der beiden Farbstoffe überzeugen. Man bringt zu diesem Zwecke eine große Flocke oder den Bodensatz einer Reinkultur von *Rhodobacillus palustris* auf einen Objektträger, läßt eintrocknen, bedeckt mit einem Deckglas und füllt dann vom Rande aus den zwischen Objektträger und Deckglas befindlichen Raum mit absolutem Alkohol aus. Es ist zweckmäßig, das Deckglas einseitig durch ein Glaskapillarröhrchen zu stützen; der Flüssigkeitsraum wird hierdurch keilförmig, und der Farbstoff wird beim Verdampfen des Lösungsmittels gegen die Schmalseite des Raumes gedrängt, so daß er sich vorzugsweise an einer Kante des Deckglasrandes anhäuft. Bei Anwendung von absolutem Alkohol scheidet sich am Deckglasrande das Bakteriochlorin in grünen Tropfen aus, daneben kann sich auch etwas Bakteriopurpurin in Form von Tröpfchen oder kleinen roten Kriställchen absondern. Verwendet man aber anstatt Alkohol Chloroform, so treten fast nur rote Tröpfchen auf, die beim

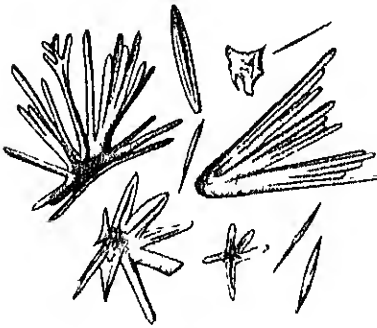


Fig 70.

Bacteriopurpurinkristalle aus  
Chloroformlösung von *Rhodospirillum*.  
Vergr. 250

Verdampfen oft hunderte von roten Kristallen oder Kristallaggregaten des Bakteriopurpurins liefern (Fig 70). Von dem grünen Farbstoff erscheint nur wenig oder gar nichts. Bei diesen Prozeduren erleidet die Bakterienmasse eine Verfärbung. Die rote Farbe verschwindet und die Bakterienmasse nimmt dabei vorübergehend (unterm Mikroskop betrachtet) eine sehr helle, schmutzig-bläulich-grüne oder eine schmutzig-braune Farbe an. Die Bakteriopurpurinkristalle sind meistens nadel-, spindelförmig, an beiden Enden zugespitzt und ziemlich flach. Auch stern- oder baumartig verzweigte Aggregate

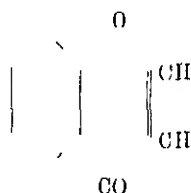
kommen vor. Ihre Farbe ist lachs- bis bräunlich-rot. Sie sind unlöslich in Wasser und Glycerin, schwer löslich in kaltem, absolutem Alkohol, hingegen leicht löslich in Chloroform, Schwefelkohlenstoff und Ather. Mit reiner Schwefelsäure nehmen sie eine tiefblauviolette bis indigblaue Farbe an so wie Carotinkristalle. Vorübergehend blau färben sie sich auch mit Salpetersäure, mit Jodjodkaliumlösung schmutziggrün. Alle diese Reaktionen sprechen dafür, daß man es in dem roten Farbstoff der Purpurbakterien mit einem carotinartigen Körper zu tun hat (MOLISCH I, 80).

Die mikroskopische Beobachtung läßt erkennen, daß der Farbstoff nicht, wie das früher angenommen wurde (BÜRSCHLI) auf eine Rindenschicht des Zellinhalts beschränkt ist, sondern daß er den ganzen Zellinhalt durchsetzt.

### 3. Gelbe und rote Farbstoffe der Phanerogamen aus der Xanthon-Flavon- und Anthracengruppe.

#### a) Xanthon- und Flavonderivate.

Diese Verbindungen, die zumeist gelbe Farbstoffe darstellen, leiten sich von einer Muttersubstanz, dem Chromon, ab, in dem der Pyronring mit einem Benzolring kombiniert ist.



Die Xanthonabkömmlinge sind im Pflanzenreiche ziemlich selten, im Gegensatz zu den sehr verbreiteten Flavonderivaten, die in der Pflanze gewöhnlich glykosidischer Natur sind und häufig an Rhamnose gebunden erscheinen. Zu den Xanthonderivaten gehören die Euxanthinsäure, das Gentisin, Datiscin und vielleicht auch Rhamnocitrin. Zu den natürlichen Flavonderivaten, die alle phenolartigen Charakter haben, gehören das Rhamnetin, Xanthorhamnin, das ungemein weit verbreitete Quercetin, Rutin, Chrysin, Luteolin, Skutellarin, Fisetin, Morin, Hämatoxylin, Brasilin und andere. Da für viele dieser Farbstoffe Methoden zum mikrochemischen Nachweis noch nicht ausgearbeitet worden sind, so können nur einige wenige behandelt werden.

#### Xanthonderivate

Gentisin,  $\text{C}_{14}\text{H}_{10}\text{O}_5$ .

**Eigenschaften und Nachweis.** Bildet lange blaßgelbe Nadeln oder Prismen. In Wasser unlöslich, schwer löslich in heißem Alkohol und Äther, leicht in Alkalien mit goldgelber Farbe. TRENNMANN (III, 155) zeigte, daß man das Gentisin aus der Wurzel von *Gentiana lutea* L. leicht sublimieren und diese Methode des Nachweises zur Erkennung der Enzianwurzel und zur Unterscheidung von Verfälschungen benutzen kann. Es entstehen bei der Sublimation zunächst kleine, stumpfe Prismen, dann mehr oder minder lange, gerade oder gebogene Nadeln, von denen nur die stärksten schwach-gelblich erscheinen. Sie zeigen die erwähnten Eigenschaften chemisch reinen Gentisins. Folgende drei Reaktionen werden noch empfohlen.

1. Das mit dem Deckglas bedeckte Sublimat wird mit alkoholischer Kal- oder Natronlauge (I v. II.) versetzt; die darauf entstehende dunkelgelbe Lösung wird durch Eindunsten etwas eingeeengt und mit Äther versetzt. Nach 1 Stunde scheidet sich die Alkaliverbindung in tiefgelben Nadeln und Prismen aus.

2. Eine diagnostisch brauchbare Nitroverbindung läßt sich leicht gewinnen, wenn man das Sublimat mit je einem kleinen Tropfen Schwefelsäure und Salpetersäure versetzt und nach dem Auflegen des Deckglases bis zur Blasenentwicklung erwärmt. Dann bilden sich kleine „öhlige Tropfen“, die sich bald in tiefgrüne bis blaugrüne, 5–20  $\mu$  breite Sphärite und Drusen umwandeln. Später treten überdies

Drusen von Dinitrogentisin in chromgelber Farbe auf, was bei den aus der Droge gewonnenen Sublimaten fast ausschließlich der Fall ist.

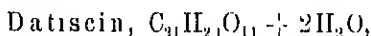
3. Durch Versetzen von Gentisin mit einem Tropfen Brom-Essigsäure und kurzes Erwärmen erhält man sofort meist gebogene fahlgelbe Nadeln in dendritischen Aggregaten einer noch unbekannten Verbindung des Gentisins.

#### Vorkommen.

Bis jetzt nur in der Wurzel von *Gentiana lutea* L. Die in der Literatur verbreitete Angabe, wonach in der Wurzel der *Gentiana fraseri carolinensis* Gentisin vorkomme, ist unrichtig; wohl aber wurden in dieser Wurzel von TRIMBLE und LLOYD (Amer. Pharm. Rundschau 1891, p. 143) zwei gelbe Farbstoffe gefunden, die beide die Zusammensetzung  $C_{10}H_{15}O_6$  haben und sich gut sublimieren lassen. Sie kommen nicht bloß in der Wurzel, sondern in weit größerer Menge im Samen und den Blumenblättern und in geringer Menge auch in den Laubblättern vor.

**Gentiolutein.** Hier sei noch ein Körper erwähnt, der, obwohl seine Zusammensetzung noch nicht bekannt ist, einstweilen hierher gestellt werden soll: das von mir bei *Gentiana germanica* entdeckte Gentiolutein. Wenn man die Laubblätter nach dem Trocknen der Mikrosublimation aussetzt, so erhält man ein Sublimat von zahlreichen gelben Kristallen. Sie sind nadel-, stern-, zigarren- oder flachsäulenförmig. Daneben kommen auch Kristalle vor, die in Gestalt und Farbe von den beschriebenen abweichen, sonst aber ein ziemlich übereinstimmendes Verhalten aufweisen. Die gelben Kristalle sind unter anderem dadurch ausgezeichnet, daß sie in Chlorkalklösung langsam vorübergehend hell blaugrün werden und sich schließlich lösen. KLEIN (III, p. 12) fand einen ähnlichen Körper auch bei *G. austriaca*. Beide geben die allgemeinen Flavonreaktionen (s. p. 225).

Das Gentiolutein kommt im Stengel, in den Blüten und insbesondere in den Laubblättern vor, dagegen fehlt es in den Blättern von *Gentiana asclepiadea*, *ciliata* und *pneumonanthe* (MOLISCH XVII).



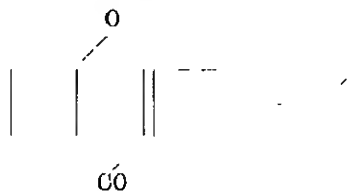
ist das Glykosid des Datisceins. Es kommt in allen Teilen von *Datisca cannabina* L., besonders reichlich in der Wurzel vor. Datiscein bildet seidenartige, zu Gruppen vereinigte Nadeln. Aus Wasser kristallisiert es in glänzenden Blättchen. Alkohol, Eisessig und heißes Wasser lösen es leicht, kaltes Wasser und Äther schwer. In Alkalien, alkalischen Erden und Ammoniak löst es sich mit tiefgelber Farbe und wird daraus durch verdünnte Säuren wieder gefällt.

HERRMANN (I, 9) versuchte, das Glykosid mikrochemisch nachzuweisen. Er fand, daß namentlich Kalk- und Barytwasser eine Gelbfärbung in vielen Zellen und Zellmembranen hervorrufen, und daraus schloß er auf die Anwesenheit von Datiscein. So zeigten in der Wurzel die Inhalte zahlreicher Zellen des Rindenparenchyms, des Phloems und der Markstrahlen und die Membranen der Holzzellen die Gelbfärbung, die auf Zusatz von verdünnten Säuren wieder verschwand. Essigsäures Blei oder Zinkchlorür erzeugen in der wässrigen Lösung gelbe Niederschläge, Kupferoxydsalze fällen grünlich und Eisenchlorid dunkelbraungrün. Auch diese Reaktionen treffen nach HERRMANN in den datiscinhaltenen Zellen ein. Nichtsdestoweniger erscheint mir der Nachweis

des Datisceins im Gewebe noch recht unsicher, da die erwähnten Färbungen und Füllungen auch von anderen, in der Pflanze sehr verbreiteten Körpern gegeben werden.

### Flavonderivate.

Die Flavone haben die allgemeine Formel



sind chemisch untereinander verwandt und treten in der Pflanze häufig als Glykoside auf. Zahlreiche gelbe natürliche Beizenfarbstoffe, Farbstoffe vieler Hölzer, Rinden, Blätter und Blüten gehören hierher. Sie wurden, da sie auch in der Praxis eine große Rolle spielen, bereits seit 60 Jahren unter anderen von ROCHLEDER, HLASIWETZ, HERZIG, KOSTANECKI und PERKIN untersucht.

Ein allgemeiner, eindeutiger histochemischer Nachweis fehlte aber bisher und es ist daher ein Verdienst KLEINS (III), einen solchen nunmehr erbracht zu haben.

Zu den allgemeinen Eigenschaften der Flavone gehören: die Löslichkeitsverhältnisse, die Bildung charakteristischer Säureverbindungen, der Diazoverbindungen mit Diazobenzolsulfat, der Salze, die nach Behandlung mit Kalium- oder Natriumazetat entstehen, die Fähigkeit als Beizenfarbstoffe mit Metallsalzen gefärbte Niederschläge zu geben und endlich die Eigenschaft auf FEHLINGSche Lösung und ammoniakalische Silbernitratlösung reduzierend zu wirken.

Indem nun KLEIN (III) die leichte Löslichkeit in Alkali mit tief gelber Farbe zur näheren Prüfung der erhaltenen Kristalle und außerdem die leichte Löslichkeit und Kristallisierbarkeit in Äthyl- und Methylalkohol, eventuell in Verbindung mit Alkali heranzog, konnte er bei einer großen Zahl von Pflanzen Flavone nachweisen. Aber nur allgemein, nicht lokalisiert. Aber auch dieser Mangel konnte überwunden werden, indem er die Halogensäuren, besonders Salzsäure, auf die zu untersuchenden Objekte direkt einwirken ließ. Es scheiden sich, wenn man Halogensäuren auf die flavonhaltigen Gewebestücke im Sublimationsring bei etwa  $40^{\circ}$  einwirken läßt, die Flavone in schön kristallisierter Form ab. „Auf einen hohlen Objektträger kommen einige Tropfen rauchende Salzsäure, darüber ein 4 bis 6 mm hoher Glasring und auf diesen das Deckglas mit einem Gewebstückchen oder Schmitte. Die fertigen Objektträger kommen in einen Trockenschrank bei  $40^{\circ}$  C. Höher darf die Temperatur nicht steigen, da die Salzsäure zu schnell abdampft und ferner die Präparate sehr dunkel (braun bis schwarz) werden. Nach  $\frac{1}{4}$  bis  $\frac{1}{2}$  h ist die Salzsäure nahezu abgedampft und das Flavon immer kristallisiert.“ Die Flavone scheiden sich bei dieser Behandlung an Ort und Stelle ab. Wenn die Präparate zu dunkel geworden sind, können sie durch Chloralhydrat-HCl genügend aufgehellt werden.



Die Form und Farbe der Flavonkristalle wechseln je nach der Farbstoffkonzentration und der Reaktionstemperatur. Ist die Temperatur höher, so bilden sich meist Sphärite, ist sie niedriger, meist Nadeln. Findet sich, wie in manchen Blüten, gleichzeitig Karotin vor, so kommt es zu einem schönen Farbengegenatz: das Karotin färbt sich im Salzsäuredampf blau wie mit Schwefelsäure und hebt sich von den gelben Flavonspießen deutlich ab. (*Viola*, *Cheiranthus*, *Ruta*.)

Unter gleichen Verhältnissen entstehen immer dieselben Kristalle, doch sind sie je nach der Art der Halogensäuren verschieden und stets charakteristisch. Die gelben Stiefmütterchen z. B. bilden mit HCl schöne Büschel von gelben Spießen, mit HBr gelbliche feine Dendrite und Büschel von langen Nadeln und mit HI tiefgelbe Nadelbüschel.

KLEIN hat mit Hilfe der von ihm ausgearbeiteten Methodik alle bisher in bestimmten Pflanzen bekannten Flavone kristallisiert und von etwa 100 verschiedenen Pflanzen 37 neue flavonhaltige nachweisen können. Ihre weite Verbreitung ist damit erwiesen.

Eine weitere Aufgabe wird es sein, Spezialreaktionen für bestimmte Flavone auszuarbeiten, vorläufig ist dies nur für das Saponarin, das Chrysin der Pappelknospen, das Apilin und Apigenin gelungen. Eine annähernde Bestimmung konnte KLEIN (III, p. 31—39) mit Eisenchlorid, Bleiazetat, Bariumhydroxyd und der Reduktionsprobe durchführen.

Mit der allgemeinen Methodik konnten histochemisch folgende Flavone nachgewiesen werden: Quercetin, Quercitrin, Rutin, Rhamnetin, Xanthorhamnetin, Isorhamnetin, Myricetin, Fisetin, Apigenin, Apilin, Chrysin, Luteolin, Genistein, Morin, Vitexin, Saponarin, Skoparin, Kämpferol, Robinin, Luteoflavin und Scutellarin.

Aus der Reihe der Flavone seien, abgesehen von dem Flavon des Prunelmehlstaubes, das auf p. 126 und 127 behandelt wurde, noch besonders hervorzuheben



findet sich in der Gartenraute *Ruta graveolens*, in den Kappern, den Blütenknospen von *Capparis spinosa*, in den Blättern von *Polygonum fagopyrum*, *Polygonum convolvulus*, *Globularia alypum*, *Eucalyptus macrorhyncha* und besonders reichlich in den mit „Wauke“ oder „chinesischen Gelbbeeren in Körnern“ bezeichneten, noch unentwickelten Blütenknospen von *Sophora japonica*.

Das Rutin ist identisch mit den als Sophorin, *Viola-quercitrin*, *Myrticcolorin* und *Quercetindirhamnosid* benannten Stoffen.

Das Rutin kristallisiert aus Wasser in hellgelben Nadeln, ist wenig löslich in kaltem, leicht in heißem Wasser und in Alkohol, unlöslich in Äther, Chloroform, Schwefelkohlenstoff und Benzol. Verwendbar für den mikrochemischen Nachweis ist nach HERRMANN (I, 30) sein Verhalten gegen Ammoniak, Alkalien und alkalische Erden. Es gibt mit diesen Körpern intensiv gelbe Lösungen, die sich an der Luft unter Sauerstoffaufnahme braun färben. Auf Grund dieser Reaktion konnte HERRMANN bei *Ruta* Rutin nachweisen, in der Wurzel (Markstrahlen, Bastparenchym und Kambium), im Stengel (Rindenparenchym, Mark), im Blattober- und im Blütenstiel. Besonders reichlich konnte er es feststellen im Kelchparenchym der Blüten von *Sophora japonica*. Rutin tritt nach HERRMANN immer im Zellinhalt auf, nie in der Membran.

Die geschilderte histochemische Methode KLEINS gibt natürlich viel verlässlichere Ergebnisse als dieser erste Versuch HERRMANNS, das Rutin direkt in der Pflanze nachzuweisen.

### Scutellarin, $C_{21}H_{15}O_{12}$ ,

wurde von MOLISCH (II) in *Scutellaria altissima* L. entdeckt und mikrochemisch verfolgt. GOLDSCHMIEDT (I) hat diesen Körper teils allein, teils mit seinem Schüler ZERNER makrochemisch genau studiert. Die beiden zuletzt genannten Chemiker haben festgestellt, daß dem Scutellarin die obige Formel zukommt, daß es ein glukosidartiger Körper ist, welcher bei der Hydrolyse das Flavonderivat Scutellarein  $C_{15}H_{10}O_6$  und Glukuronsäure gibt.

#### Mikrochemischer Nachweis des Scutellarins nach MOLISCH.

1. Man bringt frische Blätter für eine Stunde oder mehr in Salzsäuredampf, den man dadurch erzeugt, daß man in einer gut verschließbaren Glasdose konzentrierte, rauchende Salzsäure verdampfen läßt. Nach ein bis mehreren Stunden nimmt man die inzwischen infolge der Zerstörung des Chlorophylls braun gewordenen Blätter heraus und legt kleine Teile derselben für einige Zeit behufs Aufhellung des Gewebes in Chloralhydratlösung (5 Teile Chloralhydrat und 2 Teile Wasser). Die also behandelten Blattstücke enthalten in der Oberhaut zahlreiche, oft konzentrisch geschichtete und radiär gestreifte Sphärite (bis 0,1 mm) von Scutellarin. Sie liegen teils einzeln, teils in Gruppen.

Das Scutellarin bzw. die erhaltenen Sphärite sind ausgezeichnet durch ihre leichte Löslichkeit in Ammoniak, Soda, Kalilauge, ferner durch die Gelbfärbung mit Spuren von alkalischen Substanzen (Ammoniak, Kalilauge, Natriumlauge, Kalkwasser, Soda, Äthyl- und Trimethylamin). Die trockenen, nur mit wenig Wasser benetzten Kristalle werden mit etwas Barytwasser augenblicklich rostrot und kurze Zeit darauf an der Luft dunkelgrün. Durch Brom-, Chlor-, oder Jodwasser entsteht die grüne Farbe nach vorhergehender Behandlung mit Barytwasser sofort.

2. Man legt Schnitte oder Fragmente der zu untersuchenden Organe in etwa 10proz Salzsäure, worauf schon nach wenigen Minuten oder nach längerer Zeit in der Epidermis Sphärite oder büschel-, bzw. sternartig gruppierte Nadeln auskristallisieren (Fig. 71). Sie zeigen alle die unter 1 angeführten Eigenschaften des Scutellarins. Besonderes Gewicht ist auf die Reaktion mit Barytwasser und die nachherige Einwirkung der Halogene zu legen. Man erzielt die besten Resultate, wenn man die Schnitte, die nach Behandlung mit Salzsäure Scutellarinsphärite gebildet hatten, mit einem Tröpfchen Barytwasser betupft und dann in einer Lösung von Jod in Chloralhydrat legt. Nach Behandlung mit Barytwasser färben sie sich augenblicklich rostrot und in Jod-

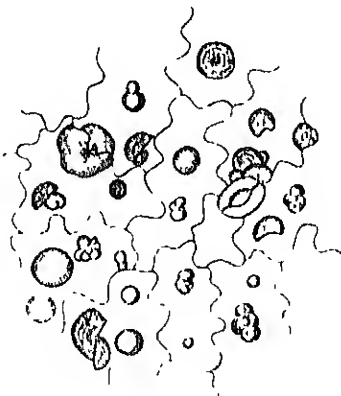


Fig. 71

Scutellarinsphärite in der Epidermis des Blattes von *Scutellaria altissima*, nach Behandlung mit 10proz Salzsäure. Vergr. 300.

chloralhydrat bei gleichzeitiger Aufhellung des Gewebes sodann malachitgrün.

Verteilung des Scutellarins in der Pflanze. Wurzel und Stengel enthalten nur wenig, das Blatt relativ viel. Der Körper erscheint in der Oberhaut, zumal der Blattunterseite, lokalisiert. Auch die Blüte führt besonders im Kelch, in der Krone und dem Gynaceum viel Scutellarin.

#### Verbreitung.

Abgesehen von *Scutellaria altissima* wurde von MOLISCH auch bei *Sc. hastatolia* L., *S. alpina* L., *S. laterifolia*, *S. galeoides* L., *S. viscidula* Spreng., *S. japonica*, ferner bei *Galeopsis tetrahit* L. und *Teucrium chamaedrys* und von STRECKER (1) auch bei *Thymus* ein Körper von den angeführten Reaktionen festgestellt. Ob es sich in diesen Arten wirklich um Scutellarin handelt, ist vorläufig, solange noch die Makroanalyse aussteht, nicht sicher, doch immerhin sehr wahrscheinlich. Jedenfalls ist das Scutellarin oder ein diesem sehr nahestehender Körper in der Familie der Labiaten sehr selten, denn STRECKER hat 140 Arten von Labiaten geprüft und ihn nur bei den vier genannten Gattungen konstatiert, außerhalb der Labiaten konnte er ihn, trotzdem er 210 Arten untersucht hat, überhaupt nicht nachweisen.

#### Hämatoxylin, $C_{16}H_{14}O_6 + 3H_2O$ .

Dieses an sich farblose Chromogen ist dem Blauholz, d. h. dem Kernholz von *Haematoxylon Campecheanum* L. eigentümlich und geht durch Aufnahme von Sauerstoff leicht in das rotbraun gefärbte Hämatein  $C_{16}H_{12}O_6$  über, das auch im Kernholz vorkommt und den eigentlichen Farbstoff des Blauholzes bildet.

Das Hämatoxylin bildet weiße tetragonale Säulen, ist wenig löslich in kaltem, gut löslich in heißem Wasser, in Alkohol und Äther. Löst sich in ätzenden und kohlensauren Alkalien und Ammoniak mit Purpurfarbe auf.

Unter dem Mikroskop erscheinen die Wände aller Zellen und Gefäße des Holzes im durchfallenden Lichte braungelb bis feuerrot. Viele Zellen des Holzparenchyms und der Markstrahlen zeigen ähnlich gefärbten Inhalt. Schnitte färben sich wegen des vorhandenen Hämatoxylics bzw. Hämateins in Ammoniak purpurn, in Kalilauge und kohlensaurem Ammon tiefblauviolett und in Alaun violett.

#### Brasilin, $C_{16}H_{14}O_5$ ,

ist der Farbstoff der beiden Kernfarbhölzer von *Caesalpinia echinata* Lam. (Farnambukholz) und *C. sappan* L. Durch Oxydation geht es in das gefärbte Brasilein  $C_{16}H_{12}O_6$  über.

Brasilin scheidet sich aus konzentrierten Lösungen in bernsteingelben Kristallen, aus verdünnten in weißen Nadeln ab. Sie lösen sich in Wasser, Alkohol, Äther, und diese Lösungen färben sich rasch an der Luft. In sehr verdünnter Kali-, Natronlauge und Ammoniak löst es sich mit prachtvoll karminroter Farbe. Schnitte durch das Farnambukholz zeigen unter Wasser die Wände aller Elemente goldgelb bis braungelb, welche Färbung wohl der Hauptmasse nach von Brasilin herrührt. Dieser Stoff bedingt, daß sich Schnitte mit Ammoniak, kohlensaurem Ammon, Kali-, Natronlauge und Kalkwasser prachtvoll karminrot färben, wobei der Farbstoff in Lösung geht. Die Hauptmasse des

Farbstoffes liegt in der Zellwand, doch sieht man auch im Zellinhalte verschiedener Elemente Farbstoffballen. Ob der Farbstoff zuerst im Inhalt gebildet wird und von hier erst in die Membran einwandert, oder ob er in der Zellhaut selbst entsteht oder sowohl im Inhalt wie in der Membran, ist unbekannt und wäre für Farbhölzer überhaupt zu untersuchen.

#### Anthracenderivate.

Bei Polygoneen, Rubiaceen, Rhamnaceen, Leguminosen, ja auch bei Flechten finden sich gelbe und rote Farbstoffe, die sich vom Anthracen ableiten. Und zwar entweder direkt von dem Kohlenwasserstoff Anthracen,  $C_{14}H_{10}$  oder von seinem symmetrischen Diketon, dem Anthrachinon:

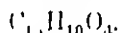
CO



CO

Hierher gehören,  
Chrysophansäure, Emodin,  
Rhein, Aloëmodin, Aloin,  
Morindin, Ruberythrin-  
säure, Rubiadin, Alkannin  
und andere.

Chrysophansäure =  
Methyldioxyanthra-  
chinon,



Goldgelbe Blättchen,  
unlöslich in kaltem Wasser, löslich in Alkohol, Äther, Aceton, Benzol  
und Chloroform. In Alkalhydraten löst es sich mit kirschroter Farbe,  
ebenso in Ammoniak nach längerer Zeit. Konzentrierte Schwefelsäure  
löst Chrysophansäure gleichfalls mit kirschroter Farbe.

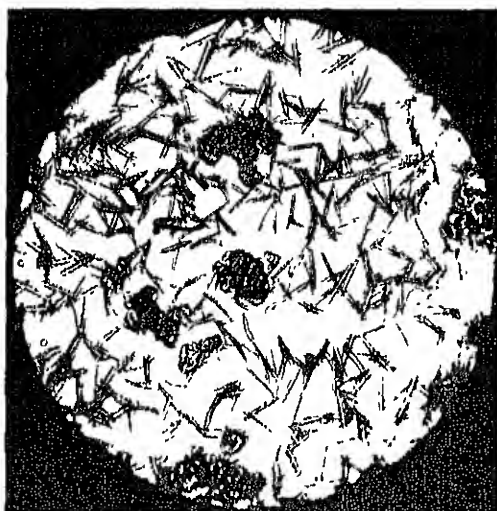


Fig 72

Kristalle und Schollen eines Anthracen-  
derivats, gewonnen durch Sublimation aus der  
Rhabarberwurzel, *Rheum Rhaponticum* L. Veigt 50

#### Vorkommen.

Im Rhizom von Rheum- und Rumex-Arten, in Cassia-(Sennah)-Blättern des  
Handels und zwar der Hauptmasse in glykosidischer Bindung als Chrysophan neben  
etwas freier Chrysophansäure

Emodin,  $C_{15}H_{10}O_5$  = Trioxymethylantrachinon.

Rotorangefarbige Nadeln von Seidenglanz, löslich in Alkohol und  
Eisessig, schwer löslich in Benzol im Gegensatz zur Chrysophansäure  
Mit Alkalien und konzentrierter Schwefelsäure gibt es ähnliche Färbungen  
wie Chrysophansäure.

MITLAGIER (I) hat die Eigenschaft der Anthrachinone, leicht zu sublimieren, benutzt, um diese Körper in Emodindrogen mikrochemisch durch Sublimation nachzuweisen. — Eine kleine Menge des Pulvers von *Cortex Frangulae* wird in ein Uhrgläschen gelegt, mit einem Objektträger bedeckt und der Erwärmung über dem Mikrobrenner ausgesetzt. Nach etwa 10 Minuten bemerkt man das Auftreten eines gelblichen Beschlages, der aus doppeltbrechenden Kristallen von sattgelber bis rötlichbrauner Farbe besteht. Die Kristalle bestehen aus Nadeln, aus bis 1 mm langen Spießen, gewöhnlich sternförmig, bandförmig oder dendritisch gruppiert oder aus Schollen. Je nach der angewendeten Temperatur erhielt ich oft sehr verschiedene Kristalle. Bei relativ niedriger Temperatur besteht das ganze Sublimat nicht aus Nadeln, sondern aus Blättchen von vier- oder sechseckigem Umriß (Fig. 73). Falls die Sublimation keine schönen Kristalle aufweist, empfiehlt es sich, noch einmal zu sublimieren, indem man einen zweiten Objektträger über den ersten derart legt, daß beide durch ein am

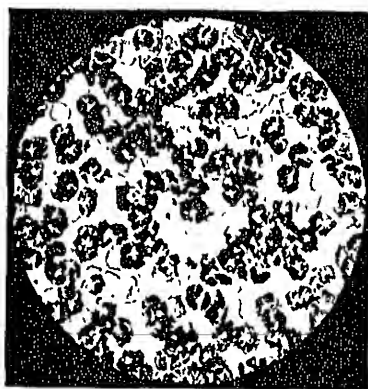


Fig. 73.

Dasselbe wie in Fig. 72. Die Kristalle haben aber die Gestalt vier- oder sechseckiger Blättchen. Vorgr. 180

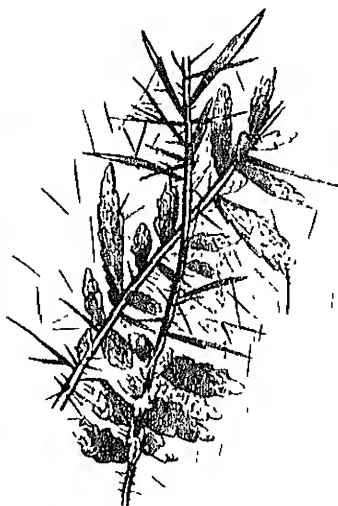


Fig. 74

Dasselbe wie in Fig. 72  
Die Kristalle bilden sich an Baumwollfasern in anderer Form aus und werden bedeutend größer Vorgr. 80

Rand dazwischen geschobenes Stückchen Glas etwas auseinander gehalten werden, und dann von neuem erwärmt. Besonders große Kristalle kann man nach meinen Erfahrungen erhalten, wenn man auf dem bei der Sublimation verwendeten oberen Objektträger einige Baumwollfäden befestigt. Auf diesen setzen sich die Kristalle mit Vorliebe fest und wachsen dann zu erstaunlicher Größe heran (Fig. 74). Die Kristalle und kristallinen Schollen lösen sich auf Zusatz von alkoholischer Kalilauge mit prachtvoll kirschroter Farbe auf, auch wässrige Kalilauge färbt rot, wobei die Kristalle unter Zerfall sich langsam lösen. Die Kristalle lösen sich in Alkohol, Äther, Chloroform, Benzol, Toluol und Eisessig. — Das Sublimat von *Radix Rhei* verhält sich ähnlich und liefert ausgezeichnet kristallisierte Sublimat, nach meinen Erfahrungen viel schöner als *Rhamnus* (Fig. 72, 73, 74). Weniger deutliche Kristalle

erhielt MITLACHER mit der Rinde von *Rhamnus Purshiana* und den Sennablättern, doch geben ihre Sublimate stets die charakteristischen Reaktionen der Oxymethylanthrachinone.

WASICKY (I) hat die interessante Beobachtung gemacht, daß in der Rhabarberpflanze mindestens zwei Enzyme vorkommen, ein Oxydation bewirkendes und die Anthraglykosidase. Die letztere spaltet die Anthraglykoside, wobei in Rheum- und Canaigre-Glyzerinpräparaten (Wurzelknollen von *Rumex hymenosepalus*) reichlich schöne Kristalle (Sterne brauner, gebogener, sehr feiner Nadeln) der in Freiheit gesetzten Anthrachinone auftreten.

#### Vorkommen.

Im Rhizom von Rheum-Arten, in der Rinde von *Rhamnus Frangula* (als Glykosid), *R. Purshiana*, in den Früchten von *Rhamnus cathartica* (TSCHIRCH und PORACCO (I) und *R. japonica*. Auch bei Leguminosen ist Emodin mehrfach festgestellt worden, z. B. im Samen von *Cassia*-Arten, in den Sennablättern, wo es nach TSCHIRCH und HIEPE (II) vielleicht als Glykosid auftritt, und in anderen

#### Rhein, $C_{15}H_8O_6$

stellt orangerote Nadeln dar, die schwer löslich in Alkohol, Aceton, Eisessig, Äther und Benzol sind. Gegenüber Ammoniak und konzentrierter Schwefelsäure verhält es sich ähnlich wie die beiden früheren Chinone. Es findet sich im chinesischen Rhabarber und wurde von OESTERLE (I) auch aus der Aloë durch Oxydation des Alocemodins gewonnen.

Behandelt man Schnitte durch das Rhabarberhizom mit wässrigen Lösungen von Alkalien oder mit konzentrierter Schwefelsäure, so nimmt der gelbe oder braunrote Inhalt der Markstrahlzellen eine purpurne oder rotviolette Färbung an, die sicherlich von den Anthracenderivaten herrührt. In der Literatur wird gewöhnlich gesagt, diese Reaktion rühre von Chrysophansäure (BORSÖW I, 21), (HERRMANN I, 35) oder von Emodin her, allem dies geht zu weit, denn in der Wurzel des Rhabarbers — und dasselbe gilt auch von anderen Polygonaceen — kommen verschiedene Chinone mit ähnlichem oder gleichem Verhalten gegenüber Ammoniak, Alkalien und Schwefelsäure vor und daher kann man, falls die erwähnten Farbenreaktionen eintreten, nicht auf ein bestimmtes Chinon, sondern nur auf Anthrachinone überhaupt schließen. Diese haben namentlich in der Familie der Polygonaceen, und zwar in der Wurzel eine weite Verbreitung.

#### Aloin

Die Formel dieses Anthracenderivats ist noch nicht ganz sicher: nach LÉGER und TSCHIRCH schreibt man dem aus der Kapaloe dargestellten Aloin die Formel  $C_{16}H_{16}O_7$  zu. Bläuschweißgelbe, prismatische Nadeln (aus Alkohol). Im kalten Wasser und Alkohol wenig löslich, leichter in der Wärme. In ätzenden und kohlensauren Alkalien leicht mit orangegelber Farbe löslich, an der Luft durch Sauerstoffabsorption nachdunkelnd.

Schneidet man ein Blatt von Aloë, z. B. von *Aloë soccotrina* DC., in der Mitte quer durch, so kann man auf dem Querschnitt unter der Oberhaut eine mehrzellige Schicht von chlorophyllreichem Parenchym,

daran stoßend einen Kranz von Gefäßbündeln und gegen das Innere des Blattes zu ein den größten Teil des Blattes ausmachendes Wassergewebe beobachten (Fig. 75 *a*). Das Gefäßbündel (Fig. 75 *c*) besteht aus einem Holz- (*x*) und einem Bastteil (*p*), und der letztere ist gegen die Oberhaut zu von einer Gruppe weitlumiger Zellen umstümt, die die sogenannte Aloë der Pharmakopoe liefern. Es sind die Aloë-(Aloin-)Zellen (Fig. 75 *C*, *a* und *B*).

Der Saft der Aloëzellen ist meist in verschiedenem Grade gelb gefärbt, selten weißlich. Genauerer darüber siehe MOLISCH (III).

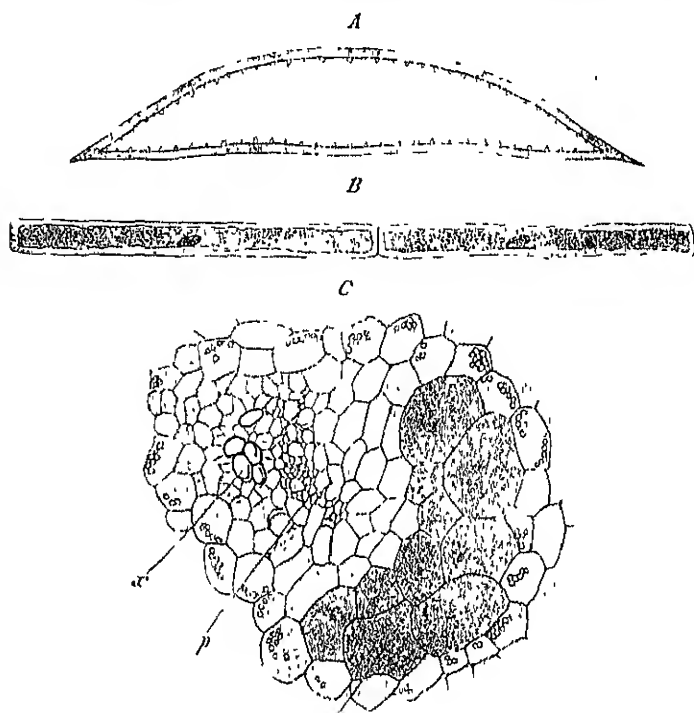


Fig. 75.

*A* Querschnitt durch das Blatt von *Aloe socotrina* DC. Lupenbild. Vergr. 2. Die dunkle Randpartie ist Epidermis und grünes Mesophyll, die helle Mittelpartie ist chlorophylloses Parenchym. An der Grenze beider Partien ein Kranz von Gefäßbündeln. *B* zwei Aloëzellen mit Kern von *Aloe saponaria* Haw. Vergr. etwa 30. *C* ein Gefäßbündelquerschnitt von *Aloe socotrina* DC., etwa 65mal vergrößert. *x* Xylem, *p* Phloem, *a* Aloëzellen.

Verschiedene Aloesorten des Handels ergeben bei der Analyse als charakteristischen Bestandteil mehrere Aloine, die einander nahe stehen (Barbaloin, Nataloin, Socaloin). Nach den Untersuchungen von TSCHIRCH, PEDERSEN (I) und OESTERLE (I) besteht eine nahe Verwandtschaft zwischen Aloin und Emodin, da sich Aloin in Emodin leicht überführen läßt.

#### Nachweis.

Bei manchen Aloe-Arten gelingt es nach MOLISCH (III, 108) einfach dadurch, daß man den frischen Safttropfen, der aus dem quer

durchschnittenen Blatte entquillt, auf dem Objektträger mit einem Deckglas bedeckt und ein bis mehrere Tage frei liegen läßt, das Aloin zum Auskristallisieren zu bringen. Gewöhnlich schon nach 1—2 Tagen schießen zunächst am Rande des Deckglases die ersten strahligen Sphärite an (Fig. 76). Sie sind von gelber Farbe, zeigen das Verhalten des Aloins und können nach und nach einen Durchmesser von über 2 mm erreichen. Daneben können auch Nadeln und Nadelbüschel derselben Verbindung entstehen. Die Beimischung von etwas Glycerin zu dem Safttropfen erwies sich nicht selten als vorteilhaft für das Auskristallisieren des Aloins. Es entstehen dann nach ein bis mehreren Tagen unter Deckglas zahlreiche Kristalle von verschiedener Form: dreieckige bis beilartige Einzelkristalle und Rosetten aus Prismen, sowie unregelmäßige Drusen. So fand MOLISCH die Verhältnisse bei *Aloë soccotrina* DC.; strahlige Sphärite fand er, allerdings nicht immer bei *A. ferox* und *A. barbadensis* Mill. Hingegen konnte er in der angegebenen Weise keine Aloinsphärite erhalten bei *Aloë saponaria* Haw., *A. vulgaris* Lam., *A. paniculata* Jacq., *A. elegans* Tod., *A. picta* Thunb. und *A. latifolia* Haw.

Die Sphärite sind in Wasser langsam, in Äther sehr langsam und in Alkohol ziemlich rasch löslich. In konzentrierter Salpetersäure lösen sie sich sofort mit tieferer Farbe, Bromdämpfe färben die befeuchteten Kristalle tief kirschrot. In Kalilauge und Ammoniak geben sie eine braungelbe Lösung, die sich bei Luftzutritt rot färbt.

Mit Hilfe dieser Farbenreaktionen, die auch rein dargestelltes Aloin — ob sich alle Aloine gleich verhalten, wurde nicht geprüft —

zeigt, gelingt es, das Aloin auch bei solchen Arten in den Aloinzellen nachzuweisen, deren Saft direkt keine Aloinkristalle gibt.

Am besten bewährte sich hierbei die Reaktion mit Salpetersäure und in zweiter Linie die mit Brom. Beide Körper wurden am zweckmäßigsten in Dampfform angewendet. Man lege den auf den Objektträger liegenden Safttropfen oder den frischen Blattquerschnitt über den Hals einer Salpetersäure- oder Bromflasche. Ist Aloin in nachweisbaren Mengen vorhanden, so tritt schon nach kurzer Zeit eine karmm- bis himbeerrote Färbung ein, die sich bei der Wegnahme des Präparates an der Luft häufig noch verstärkt und bei Zufuhr von konzentrierter Schwefelsäure bei größeren Mengen von Aloin in Blau umschlägt. Eine zu lange Einwirkung der Dämpfe ist zu vermeiden, da dann der gebildete Farbstoff wieder zerstört wird. Die Reaktion tritt immer zuerst in den Aloinzellen ein, weil das Aloin in diesen lokalisiert ist und in den übrigen Zellen des Blattes nicht oder vielleicht nur in Spuren vorhanden ist. Sowie der Aloysaft sich aus den Aloëzellen in die Umgebung ergießt, tritt die Reaktion natürlich auch in dieser auf.

Nach dem angegebenen Verfahren erhält MOLISCH die Rotfärbung mit Salpetersäure und zumeist auch mit Brom bei *Aloë obscura*,

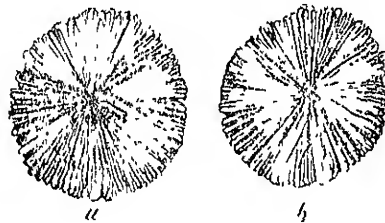


Fig. 76

Aloënsphärite *a* und *b* von *Aloë soccotrina*. Direkt durch langsames Verdunsten unter dem Deckglas gewonnen. Sehr schwache Vergr.



*A. picta* Thunb., *A. abyssinica* Lam., *A. paniculata* Jacqu., *A. barbadensis* Mill., *A. maculata*, *A. africana* Mill. und *A. soccotrina* DC. Negativ fiel die Probe aus bei *A. elegans* Tod., *A. arborea* und *A. Schimper* Tod.

Es sei nochmals darauf hingewiesen, daß die angeführten Reaktionen nicht den Schluß auf ein bestimmtes Aloin erlauben, da es ja mehrere, nicht ganz übereinstimmende Aloine gibt, und wenn mit Alkalien Rotfärbungen eintreten, so ist zu bedenken, daß Aloin leicht Emodin abspaltet (TSCHIRCH, PEDERSEN), von Emodin fast stets begleitet wird und daß daher das Emodin an der Reaktion mit Alkalien auch beteiligt sein kann. Jedenfalls wird durch den geschilderten Nachweis die Gegenwart von ein oder mehreren Anthracenderivaten angezeigt.

Aloë soccotrina zeichnet sich vor allen anderen Arten durch die außerordentlich intensive Reaktion aus. Bei dieser Gelegenheit sei auf die bekannte Tatsache hingewiesen, daß der Saft gewisser Aloöarten die Eigentümlichkeit hat, sich an der Luft zu röten. Verwundete Stellen der Blätter, absterbende Organe färben sich gleichfalls rot. Eine geradezu prachtvolle karminrote Lösung erhält man nach MOLISCH (III, 110), wenn man ein Blattstück von *A. soccotrina* DC. durch mehrstündiges Verweilenlassen in Chloroformdampf zum Absterben bringt und dann in Wasser legt. Der aus dem quer durchschnittenen Blatt fließende gelbe Aloösaft bleibt, wenn er rasch eintrocknet oder in wasserreichem Zustande von Luft abgesperrt wird, gelb, hingegen wird er, vor Wasserabgabe geschützt, an der Luft rot. Im Saft vorhandene Vakuolen zeigen die Rotfärbung häufig zuerst.

Ob die spontane Rötung des Saftes an der Luft von einem besonderen Chromogen ausgeht oder vom Aloin, wie PROLIERUS (I) meint, bedarf der näheren Untersuchung. Würde das letztere zutreffen, so müßte das Aloin von *A. soccotrina* jedenfalls als verschieden von den Aloinen sich nicht rötender Arten angenommen werden. *A. africana* verhält sich bezüglich der Rötung ähnlich wie *A. soccotrina*, nur in viel schwächerem Grade.

#### Morindin, $C_{27}H_{30}O_{15} - H_2O$ .

In den Wurzeln mehrerer Morinda-Arten, insbesondere der *M. citrifolia* L., *M. tinctoria* Roxb., *M. bracteata* Roxb., *M. angustifolia* Roxb. und anderer, die in ihren tropischen Heimatländern heute noch als Farbmittel benutzt werden, findet sich das größtenteils aus *M. citrifolia* und *M. tinctoria* dargestellte Pigment Morindin, welches glykosidischer Natur und in Zucker und ein anderes Pigment, das Morindon, spaltbar ist. Nach OESTERLE und TISZA (III) enthält die Wurzelrinde von *M. citrifolia* außerdem noch Trioxymethylantrachnonmonomethyläther  $C_{16}H_{12}O_5$ , Morindadiol  $C_7H_{10}O_4$  und Soranjidiol  $C_{15}H_{10}O_4$ . Die beiden letzteren sind Dioxymethylantrachinone.

#### Eigenschaften.

Morindin bildet aus Alkohol feine hellgelbe Nadeln, ist unlöslich in Äther, Chloroform, Benzol und Petroläther, sehr leicht löslich in Aceton, Eisessig, weniger leicht löslich in verdünntem und noch weniger in absolutem Alkohol. In konzentrierter Schwefelsäure löst sich Morindin mit purpurroter, in Alkalien mit roter Farbe.

Morindon scheidet sich aus Alkohol in Form eines feinen rotbraunen, metallisch-bronzeähnlich glänzenden Kristallpulvers aus. Aus Toluol kristallisiert es in kurzen derben Nadeln von zinnoberroter Farbe, bei der Sublimation in orangeroten Nadeln. Es ist in Alkohol, Äther, Benzol, Xylol, Toluol und Eisessig leicht löslich, unlöslich in Wasser. In Alkalien und konzentrierter Schwefelsäure löst es sich mit blauvioletter Farbe.

#### Mikrochemischer Nachweis.

TUNMANN (1) versuchte die von OESTERLE und TISZA isolierten Substanzen in Holz und Rinde von *Morinda citrifolia* mikrochemisch nachzuweisen. Man findet im Parenchym, in den Markstrahlen, im Rindenparenchym überall Ballen und Schollen einer gelbbraunen Substanz, die mit Schwefelsäure und Alkalien einer gelbbraunen Färbung geben. Nach TUNMANN findet sich das Morindin vorzugsweise, wenn nicht ausschließlich, in den Markstrahlen, Soranjidiol in einzelnen Zellen des Phloemparenchyms und neben Morindin im Steinkork; Morindin auch in den Siebröhren. Ob man tatsächlich auf Grund der Farbenreaktionen und der Löslichkeit den Sitz der genannten Substanzen wirklich im Gewebe so scharf unterscheiden kann, erscheint einer Nachprüfung wert.

TUNMANN bemerkt, daß er mit gepulvertem Holz ein geringes unkristallisiertes und mit der Wurzel von *Morinda citrifolia* ein Sublimat mit einzeln liegenden Nadeln erhalten hat. Die von mir geprüfte Wurzeldroge derselben Pflanze gab geradezu ausgezeichnete, bräunlich-gelbe oder orangerote Sublimat von Kristallen Nadeln, Spieße, Späne mit ausgezackten Enden, entweder einzeln oder in mannigfachen Aggregaten (Fig. 77)

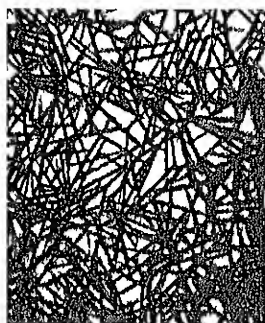
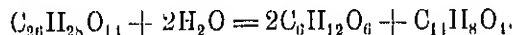


Fig. 77  
Morindinkristalle aus der Wurzel von *Morinda citrifolia* L., gewonnen durch Sublimation. Vergr. 90.

Die sublimierten Kristalle lösen sich in Schwefelsäure mit roter, in Alkalien mit blauvioletter Farbe und bestehen sicher aus Anthrachinonen, wahrscheinlich aus einem Gemisch von Morindin und Morindon und vielleicht noch anderen.

#### Ruberythrinsäure, $C_{26}H_{28}O_{14}$ .

Die unterirdischen Teile (Wurzeln und Ausläufer) gewisser Rubiaceen, namentlich der Farberbete *Rubia tinctorum* L. und *R. peregrina* L., enthalten Farbstoffe der Anthracenreihe. Die Krappfarbstoffe kommen in der lebenden Pflanze in glykosidischer Bindung vor, so die Ruberythrinsäure und das Rubiadinglykosid. Den wichtigsten Bestandteil der unterirdischen Teile der *Rubia tinctorum* bildet das Glykosid Ruberythrinsäure, das unter dem Einfluß eines in der Wurzel enthaltenen Enzyms, des Erythrozyms (Rubiase) postmortal oder beim Kochen mit verdünnten Säuren in Zucker und Alizarin nach der Gleichung gespalten wird:



In der abgestorbenen Wurzel (inkl. Rhizom) findet sich neben Alizarin auch Purpurin, das aus einem noch nicht genau bekannten Glykosid entsteht, und andere Farbstoffe der Anthracenreihe.

DECAISNE (I) hat seinerzeit seine Untersuchungen über die Krapp-pflanze *Rubia tinctorum*, und zwar über ihre Anatomie, über das Auftreten des Farbstoffes, ihre Kultur und die Bereitung der Krappfarbstoffe mitgeteilt. Eine Zusammenfassung unserer Kenntnisse nach der technisch mikroskopischen Seite geben WIESNER (I) und VOGL (I, 538) und nach der chemischen Seite CZAPEK (I), RUPE und ALTENBURG (I). Über das Vorkommen und den mikrochemischen Nachweis des Krappfarbstoffes habe ich die folgenden Erfahrungen gemacht.

Die Ruberythrinssäure findet sich im lebenden Rhizom in den Parenchymzellen der Rinde, des Markes, des Holzes und in geringer Menge auch in den Kambiumzellen vor. In der Wurzel führt es haupt-



Fig 78.

Ruberythrinssäurekristalle im Wurzelrindenparenchym von *Rubia tinctorum*, entstanden nach Behandlung mit abs. Alkohol. Vergr 325



Fig 79

Ruberythrinkristalle, gewonnen durch Sublimation aus der Wurzel von *Rubia tinctorum* Vergr 70.

sächlich das Rindenparenchym. Eine frische Schnittfläche des Rhizoms erscheint infolge des Farbstoffes gelborange. Die lebende Zelle enthält nur gelben Farbstoff, das Auftreten von rotem muß als ein Zeichen des eintretenden oder eingetretenen Todes angesehen werden. Der Farbstoff gehört in der lebenden Zelle nur dem Zellinhalt an. Man kann sich leicht davon überzeugen, wenn man durch Zusatz von 10proz. Kochsalzlösung Plasmolyse einleitet. Es zieht sich dann der Zellinhalt zu einer orangefarbenen Kugel zusammen, während die Zellwand ganz farblos erscheint. Es wird von NÄGELI und SCHWENDENER (I, 502) angegeben, daß man in älteren Wurzeln häufig lebenskräftige Zellen beobachtet, deren Primordialschlauch sich auf Zusatz von Glycerin kontrahiert und deren Membran ziemlich intensiv gefärbt sei. Dies kommt meinen Erfahrungen gemäß nur vor, wenn eine lebende Zelle an tote

angrenzt und die Membran der lebenden Zelle den Farbstoff von der toten her aufnimmt.

### Mikrochemischer Nachweis.

1. Werden mehrere Schnitte des lebenden Rhizoms auf dem Objektträger mit absolutem Alkohol versehen, mit dem Deckglas bedeckt und stehen gelassen, so entstehen, bevor noch der Alkohol völlig verdunstet ist, auf und in dem Gewebe zahllose kleine feuer- oder orange-rote Ballen oder sternartige Kristallaggregate des Farbstoffes (Fig. 78). Ähnliche Ausscheidungen erfolgen nach mehreren Stunden zum Teil noch in dem lebenden kontrahierten Zellinhalt auf Zusatz von 10 proz. Kochsalz- oder ebenso konzentrierter Magnesiumsulfatlösung. Doch ist die letztere Methode nicht so präzise wie die mit Alkohol; sie tritt nur ein, wenn die Farbstofflösung sehr konzentriert ist.

2. Schnitte durch die frische Wurzel mit 2% Salzsäure bis zum einmaligen Aufwallen unter Deckglas erwärmt, lassen alsbald zahlreiche orangerote Farbstoffnadeln und nach mehreren Stunden Aggregate von solchen oder orangerote Farbstoffballen erkennen (Alizarin?).

3. Ein auf dem Objektträger haltender Schnitt, einen Augenblick über die Öffnung einer Ammoniakflasche gehalten, färbt sich sofort intensiv krapprot. Kali- und Natronlauge geben ähnliche Färbungen. Auf Zusatz einer Säure, z. B. Salz- oder Essigsäure, wird der ursprüngliche Farbenton wieder hergestellt.

4. Sublimation. Der Krappfarbstoff läßt sich ausgezeichnet sublimieren. Schnitte durch lebende Rhizome geben Sublimate, die aus orangefarbenen Kristallen bestehen: Nadeln, Spießen usw. (Fig. 79).

Die Kristalle lösen sich in Ammoniak und Kalilauge mit violetter Farbe und färbten sich mit kohlensaurer Ammonlösung tief violett. Diese Farbenreaktionen der Kristalle, zusammengehalten mit ihrer Schwerlöslichkeit in Wasser, absolutem Alkohol, Äther und Benzol sprechen dafür, daß es sich hier wenigstens der Hauptsache nach um Ruberythrinäure handelt. Ähnliche Sublimationen geben auch die kauflichen Drogen. Unabhängig von mir hat TUNMANN (II) schon früher den Sublimationsnachweis der Ruberythrinäure erbracht.

### Vorkommen

Abgesehen von *Rubia tinctorum* und *R. peregrina* enthalten noch andere Rubia-Arten eigenartige Anthracenderivate. So *Rubia sikkimensis* Kurz und *R. cordifolia* L., die das Glykosid Munjistin führen. Anthracenderivate sind aber zweifellos in der Familie der Rubiaceen noch viel weiter verbreitet als man bisher gewußt hat, denn ich habe, als ich ohne besondere Auswahl die mir zugänglichen Rubiaceen aus der Reihe der Stellatae daraufhin prüfte, bei allen in den unterirdischen Organen die Reaktion mit Ammoniak und Alkalien und bei den Farbstoffreicheren auch die Reaktion mit Alkohol erhalten. Es waren dies

<i>Gahum Mollugo</i> L.	<i>Asperula odorata</i> L.	<i>Sherardia arvensis</i> L.
„ <i>aristatum</i> L.	„ <i>divaricata</i> Bisch.	<i>Crucianella molluginoides</i> L.
„ <i>vernum</i> Scop.	„ <i>ciliata</i> Roch.	„ <i>angustifolia</i> L.
„ <i>boreale</i> L.	„ <i>leucanthera</i> Beck.	
„ <i>polymorphum</i> Knaf.	„ <i>taurina</i> L.	
„ <i>cruciata</i> Scop.	„ <i>tinctoria</i> L.	

Hingegen erhielt ich in anderen Abteilungen der Rubiaceen die Reaktionen nicht bei

<i>Coffea arabica</i> L.	<i>Cinchona succirubra</i>
<i>Chiococca racemosa</i> L.	<i>Gardenia florida</i> L.
<i>Psychotria emetica</i> Mut.	<i>Pavetta laurifolia</i> Lindl.
<i>Cephaelis Borei</i> Töljsem. u. Bln.	<i>Spermacoce tenuior</i> L.
	„ <i>laevis</i> L.

#### Alkannin, $C_{15}H_{14}O_4$ ,

ist ein roter Farbstoff, der namentlich aus der Wurzel der *Alkanna tinctoria* Tausch gewonnen wird.

#### Nachweis.

Das Alkannin ist in ätherischen und fetten Ölen, in Alkohol, Äther, besonders aber in Chloroform und Chloralhydrat löslich, in Wasser unlöslich. In Alkalien löst es sich mit tiefblauer Farbe, die beim Ansäuern wieder in rot umschlägt. Es ist amorph und bildet dunkelrote Krusten. Schnitte durch die Handelsware lassen die oben angeführten Eigenschaften leicht erkennen.

Ich konnte Alkannin leicht sublimieren. Das Sublimat besteht aus roten Tröpfchen von den Kennzeichen des Alkannins.

Entstehung und Sitz. Es wird behauptet, daß das Alkannin in den Rindenhöhlungen gebildet wird und auch in den Zellwänden vorkommt. Nach ERIKSSON (I) entsteht es immer im Zellinhalt und durchdringt nicht die Wände. Schon an der Keimwurzel sind einzelne Epidermiszellen mit den zugehörigen Haaren rot gefärbt. Die roten Zellen häufen sich und beim Übergang des primären Baues der Wurzel in den sekundären erscheint schon die ganze Oberhaut rot. Wird dann ein Teil der primären Rinde mit der Epidermis abgeworfen, so bildet sich nun der Farbstoff in viel größerer Menge in verkorkten Zellen, die aber nicht zum normalen Kork gehören. Die Entstehung des Farbstoffes ist nach ERIKSSON auch häufig von dem Zerreißen des Wurzelgewebes abhängig, denn überall dort, wo Farbstoff auftritt, ist das Gewebe zerfetzt.

Genauere Angaben über den Sitz und das Auftreten des Alkannins verdanken wir PULITZER (I). Beobachtungen hauptsächlich an *Lithospermum arvense* und *Echinum vulgare* haben gezeigt, daß das Alkannin im Zellinhalt der lebenden Oberhautzelle bereits im allerjüngsten Stadium des Keimlings gebildet wird, die Zellhaut durchdringt, wobei es die Interzellularen und Mittellamellen ausfüllen kann und dann auf die Außenseite der Zellhaut tritt.

Die Alkannin-Bildung kann auch künstlich durch Verwundung an bestimmten Stellen hervorgeufen werden. Während das Alkannin gewöhnlich nur in der Epidermis der Wurzel entsteht, kann es in Folge der Verletzung auch im Parenchym der Wurzel und des Hypokotyls auftreten.

#### Verbreitung.

Das Alkannin oder demselben verwandte Farbstoffe sind nach den Untersuchungen von VOGTHERR (I), HOLMES (I), HARTWICH (I) und NORTON (J) in der Familie der Borragineen sehr verbreitet. VOGTHERR fand es bei *Alkanna sylvatica* Boiss. et Heldr., *A. cappadocica* Boiss. und Heldr., *Onosma echinoides*, *Macrotomia*

cephalotes DC., *Megacaryon orientale* (L.) Boiss., *Lithospermum arvense* L. und *L. Erythrorhizon*. NOYERON fand den Farbstoff noch bei *Plagiobothrys arizonicus* und *P. tenellus*, wo er in Stamm, Wurzel und Blättern vorkommt, bei *Erythricum glomeratum* und *Krynitznia barbiger* enthalten ihn die Blätter reichlich. Nach HARTWICH findet sich der rote Farbstoff auch bei *Onosma*-Arten, *Alkanna Mathioli* Tausch, *Arnobia perennis* Tausch, *A. tingens* DC. und anderen. Nach PULTZER (1) ist das Alkannin innerhalb der Familie der Borragineen noch viel verbreiteter als man bisher anzunehmen geneigt war. Es wurden von ihr im ganzen 1100 verschiedene Arten des Herbariums geprüft und es konnte dieser Farbstoff bei etwa 150 Arten, die sich auf die nicht baum- und strauchförmigen Borraginoideen verteilen, nachgewiesen werden.

#### IV. Indolderivate.

Indol,  $C_8H_7N$ ,

ist die Muttersubstanz, von der sich unter anderen einige wichtige Farbstoffe, wie Isatin und Indigblau, ableiten. Das Indol kann als eine Kombination eines Benzolringes mit einem Pyrrolring aufgefaßt werden.

##### Vorkommen.

In den Ausdünstungen der Blüten von *Jasminum Sambac*, *Citrus Aurantium* L., *C. decumana* L., *C. japonica*, *C. Limonum* Risso, *C. nobilis* Laur., *C. trifoliata*, *C. medica* L., *C. Innetta* Risso, *Coffea liberica*, *C. robusta*. In den Blüten von *Visnea Moenera* L. und *Murraya exotica* L. In einem blühenden Kolben einer *Caladium*-Art und dem Holze von *Celtis reticulosa* (G. ZEMPTEN). Das Indol wurde von HESSE (1) auch in den Jasminblütenparfums (*Jasminum grandiflorum*) des Handels und in der Blütenessenz von *Citrus Bigaradia* aufgefunden.

Eigenschaften. Große, farblose, glänzende Blättchen. Schmelzpunkt  $52^\circ$ . Leicht flüchtig. Leicht löslich in heißem Wasser, aus dem es sich beim Erkalten zunächst in feinen Tröpfchen, dann in farblosen Blättern abscheidet. Ausgezeichnet löslich in Äther, Alkohol und Kohlenwasserstoffen.

##### Nachweis

1. Mit Oxalsäure. Für den mikrochemischen Nachweis empfahl VERSCHAFFELT (1) eine von GNEZDA (1) aufgefundenene Indolreaktion. Man legt nach VERSCHAFFELT auf den Grund eines Becherglases oder einer Kristallschale einen Watte- oder Glaswollebausch, der mit konzentrierter Oxalsäurelösung getränkt ist, darauf ein Deckglaschen und darüber eine frische Blüte von *Jasminum Sambac* Ait. oder *Citrus* sp. Nach  $\frac{1}{2}$  Stunde nimmt die Watte in der Umgebung der Blüte eine rosa Färbung an, die sich nach und nach verstärkt und in violett übergeht. Andere zweibasische Säuren geben eine ähnliche Färbung, aber nicht so schön wie Oxalsäure. GNEZDA hat schon hervorgehoben, daß die Reaktion nicht eindeutig ist, sondern auch von anderen, allerdings sehr nahestehenden Körpern wie Skatol und  $\alpha$ -Methylindol hervorgerufen wird. Jedenfalls darf man aus dem Zutreffen der Reaktion auf einen Vertreter der Indolgruppe schließen.

2. Ehrlichsche Reaktion (1). Wenn man eine Indollösung mit dem halben Volum einer 2proz. p-Dimethylaminobenzaldehydlösung in Alkohol versetzt, 10 Minuten schüttelt und dann tropfen-

weise eine 25proz. Salzsäure hinzuffügt, so tritt Rotfärbung ein. Sie erscheint noch bei einer Verdünnung von 1:1000000. Tritt die Reaktion erst bei Zugabe von Nitrit ein, so beweist sie nichts, da das Reagens mit Nitrit an und für sich eine schwache Rosafärbung gibt. Das EHRICHsche Reagens wird gewöhnlich zum Nachweis des von Bakterien erzeugten Indols herangezogen, es kann aber auch dem Nachweis dieser Substanz in Blüten dienen. Man setzt, um Täuschungen mit Phloroglucin, das ebenfalls die Reaktion gibt und vielleicht vorhanden sein könnte, zu vermeiden, mit dem Reagens getränkte Papierstreifen oder Glaswolle Blütenexhalationen aus. Bei Gegenwart von Indol tritt Rotfärbung ein (WEEHUIZEN I). Vgl. auch BACCARINI (I).

3. Nitrosoindolreaktion. Sie dient gewöhnlich dazu, um das Indol in Bakterienkulturen, die aus Eiweiß Indol leicht abspalten, nachzuweisen. Eine Indollösung gibt mit Salpetersäure und Natriumnitrit einen roten Niederschlag von Nitrosoindolnitrat oder bei geringen Indolmengen eine rote Färbung. An Stelle der Salpetersäure wird auch Schwefelsäure verwendet. Ist in der zu untersuchenden Probe schon Nitrat vorhanden, so gelingt der Nachweis auch mit Schwefelsäure allein. Bei positivem Ausfall der Probe ist in diesem Falle Indol und Nitrit vorhanden. Man fügt am besten zur Bouillonkultur — sie soll nicht unter 8 Tage alt sein und keinen Zucker enthalten haben — etwa ihr halbes Volum 10proz. Schwefelsäure. Erscheint beim Erwärmen auf 80° direkt eine rosa- oder blaurote Färbung, so ist Nitrit und Indol zugegen, da eben für die Reaktion beide Stoffe notwendig sind. Auf diese Weise läßt sich der Indolnachweis bei Kulturen der Diphtheriebakterien, des Cholera vibrio und vieler anderer Vibrionen erbringen, man nennt in bakteriologischen Kreisen deshalb auch diese Probe die „Rote Cholera-reaktion“ (LEHMANN und NEUMANN I). Eine große volle Öse einer alten Agarkultur von *Vibrio Cholerae* enthält genügend Indol, um, in 10 cem Peptonwasser übertragen, das Gelingen der Indolreaktion zu ermöglichen.

WEEHUIZEN (II) benutzte zum Nachweis des Indols die von VERSCHAFFELT verwendete konzentrierte wässrige Oxalsäurelösung und außerdem eine 1proz. Lösung von Vanillin in einer 1proz. Lösung von Paradimethylaminobenzaldehyd in derselben Mischung.

Diese Reagentien wurden in Streifen dünnen Filtrierpapiers aufgenommen und gleichzeitig mit den auf Indol zu prüfenden Blüten, ohne diese mit dem Papier zu berühren, unter eine Glasglocke gebracht. Bei Gegenwart von Indol färbten sich alle drei Papiere rot. Die beiden letzten Lösungen färben sich relativ rasch, die der Oxalsäure langsam, oft erst nach einer Nacht. Trotzdem ist gerade diese Reaktion sehr empfindlich. Auf diese Weise konnte Indol in dem Blütenduft von *Murraya exotica*, *Citrus decumana* Murr. und von *Caladium*-Varietäten nachgewiesen werden. Indol kommt also schon während des Blühens dieser Pflanzen vor.

Indol wurde auch im Blütenduft von Citrus- und Coffea-Arten von SACK (I) und von BACCARINI (I) in Blüten von 24 Arten von Phanerogamen und in vegetativen Teilen von Myrtus und Tilia nachgewiesen.

Skatol,  $C_9H_9N$ ,

bildet aus Ligroin vom Schmelzpunkt  $65^\circ C$  blendend weiße Blättchen. Zeigt einen unangenehmen, an Faeces erinnernden, im Blütenduft aber nicht immer unangenehmen Geruch.

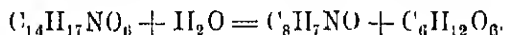
Das Skatol wird durch Bakterien aus Eiweißkörpern erzeugt und findet sich in dem widerlich riechenden Holze von *Celtis reticulosa* Miq. vor.

Makrochemisch kann man sich von der Anwesenheit des Skatols im *Celtis*-Holze überzeugen, wenn man 100 g des fein vermahlenden Holzes mit Wasserdampf destilliert und einem kleinen Teile dieses Destillats ein wenig einer 2proz. Lösung des EIRLICH'schen Aldehyds und schließlich starke Salzsäure zusetzt. Es entsteht eine violettrote Flüssigkeit, die nach Zusatz von einem Tropfen einer  $\frac{1}{2}$ proz. Natriumnitritlösung dunkelblau wird. Durch diese, von STEENSMA angegebene Reaktion kann man Skatol leicht von Indol unterscheiden, da Indol hierbei nicht eine blaue, sondern eine rote Färbung gibt.

Mikrochemisch konnte WEERHUIZEN (II, 105) das Skatol im *Celtis*-Holze nachweisen, indem er dünne Schnitte entweder mit einer ätherischen Lösung (wässrige wirkt nicht) von Pikrinsäure oder mit einer 2proz. Lösung von Glykose in starker Salzsäure behandelte. Werden die Schnitte mit Pikrinsäurelösung auf dem Objektträger wiederholt angefeuchtet, so nehmen die skatolhaltigen Stellen nach dem Verdunsten des Äthers eine rote Farbe an. Werden die Schnitte in der Glykose-Salzsäurelösung kurze Zeit vorsichtig erwärmt, so färben sich die Markstrahlen und das Holzparenchym schön violett. Eben diese Elemente färben sich auch mit ätherischer Pikrinsäure rot. In ihnen ist das Skatol lokalisiert.

Indican,  $C_{14}H_{17}O_6N - \frac{1}{2} \cdot 3 H_2O$ ,

ist in der Regel die Stammsubstanz des Indigblaus oder Indigotins. Dieser blaue Farbstoff findet sich niemals fertig gebildet in der lebenden Pflanze vor, sondern entsteht erst postmortal zumeist aus einem in der Pflanze vorkommenden Glykosid, dem Indican. Dieses ist, wie BELJERINCK (I) gezeigt hat, ein Indoxylglykosid. Beim Waid, *Isatis tinctoria* fand BELJERINCK (II) eine andere Stammsubstanz, die kein Indoxylglykosid und auch kein freies Indoxyl, wie er (III) früher dachte, darstellt, sondern eine noch nicht näher bekannte Indoxylverbindung, der er den Namen Isatan gegeben hat. Das Glykosid spaltet sich unter dem Einfluß von verdünnten Mineralsäuren oder eines Fermentes in Indoxyl und Zucker, und das Indoxyl wird durch den Luftsauerstoff schließlich in Indigblau übergeführt



## Vorkommen

In meinen Arbeiten über Indican (MOLISCH IV, VI), besonders aber in meiner Monographie über Indigo (MOLISCH V) habe ich eine Übersicht über Indigoblau liefernde Pflanzen gegeben, aus der ich hier das Wichtigste hervorhebe.

Das Glykosid Indican und damit verwandte Indoxylverbindungen sind im Pflanzenreiche nicht sehr verbreitet. Mit Sicherheit können als Indigopflanzen bezeichnet werden: Zahlreiche, aber nicht alle Arten der Gattung *Indigofera*, *Isatis*



tinctoria L., I. alpina All., I. lusitanica L., Marsdenia tinctoria R. Br., M. parviflora Decaisne, Polygonum tinctorium L., viele Thajus-Arten, Calanthe veratrifolia R. Br., C. vestita Rehb., Echites religiosa Teijsm. et Binn. (MOLISCH VI), Crotolaria retusa L., C. Cunninghamii R. Br., C. turgida Loisel., C. incana L. und Wrightia antidysenterica.

Zu jenen Gewächsen, die nach mehrfachen Angaben Indigo liefern sollen und wahrscheinlich auch liefern, die ich aber wegen Mangel an Material selbst nicht untersuchen konnte, gehören: Asclepias tinctoria Roxb., A. tingens Roxb., Wrightia tinctoria R. Br., Bignonia sp., Eupatorium indigoferum Poit., E. tinctorium, Spilanthes tinctorius Lour., Galega tinctoria L., Sophora tinctoria L., Polygala tinctoria Forsk., Polygonum barbatum L., Ruellia comosa Wall., Sericographis Mohandii DC.

Überdies werden irrtümlich einige Pflanzen angeführt, die angeblich Indigo oder einen damit sehr ähnlichen Farbstoff liefern sollen: Mercurialis perennis L., Melampyrum arvense L., M. cristatum L., Polygonum Fagopyrum L., Polygala bracteolata, Croton tinctorius L., C. verbascifolius Willd., Phytolacca decandra L., P. mexicana Sweet., Monotropa Hypopitys L., Fraxinus excelsior L., Coronilla Emerus L., und Amorpha fruticosa L. Davon habe ich die mit einem <sup>1</sup> versehenen Arten untersucht, aber aus keiner einzigen in irgendeiner Weise eine Spur Indigoblau gewinnen können.

Es sei darauf aufmerksam gemacht, daß es neben den Indigopflanzen tatsächlich Gewächse gibt, in denen postmortal ein blauer oder blaugrüner, von Indigo sehr verschiedener Farbstoff aus einem Chromogen entsteht. Ich habe seinerzeit (MOLISCH V) vorgeschlagen, solche Pflanzen vorläufig, bevor wir über die Natur dieses Farbstoffes oder dieser Farbstoffe etwas Näheres wissen, als Pseudoindicaupflanzen den Indigopflanzen gegenüberzustellen. So kommt in den Organen der frischen Schuppenwurz Lathraea squamaria L. ein Chromogen vor, das mit verdünnter Salzsäure einen blauen Farbstoff liefert, der aber von Indigo ganz verschieden ist. Einen vielleicht damit verwandten, wenn nicht denselben Farbstoff, Rhinanthocyan, liefern bei gleicher Behandlung im frischen Zustande Rhinanthus Crista galli L., Euphrasia officinalis L., Utricularia vulgaris L., Galium Mollugo L. und Monotropa Hypopitys L. Vgl. auch NESTLER (I) und VOLKART (I). Weitere Beispiele für Pseudoindikane, die vielleicht mit Rhinanthin zusammenhängen, hat MÜLLER (I) bekannt gemacht. Er hat 374 Blütenpflanzen untersucht und bei ungefähr 74 Arten durch Behandlung mit warmer, 5proz. Salzsäure einen blauen Farbstoff erhalten, der sich wie das Rhinanthocyan durch Amylalkohol ausschütteln läßt.

Blauen Farbstoff liefern nicht bloß die oben erwähnten Scrophularineen, sondern nach MÜLLER auch die Rubiaceen-Gattungen Galium, Asperula, Sherardia, Rubia und Vaillantia.

Ein Pseudoindican findet sich auch in den Cystolithenzellen der Acanthaceen Sanchezia nobilis Hook., Goldfussia anisophylla Nees und Strobilanthes Dyerianus hort., das beim Absterben der Zellen in Berührung mit Luft einen intensiv blaugrünen, von Indigo ganz abweichenden Farbstoff gibt MOLISCH (VII). Das Chromogen besitzt einen äußerst labilen Charakter, und der Farbstoff verfärbt sich bereits an der Luft und unter dem Einfluß des Zellinhaltes, er wird durch Siedetemperatur, durch Säuren, Alkalien, alkalische Erden und oxydierende Substanzen alsbald zerstört. Durch diese leichte Zersetzlichkeit und

Veränderlichkeit unterscheidet sich dieser Farbstoff wesentlich vom Indigblau, mit dem er wohl keine Verwandtschaft besitzen dürfte.

**Eigenschaften des Indigblaus.** Auf nassem Wege dargestellt, bildet es ein amorphes blaues Pulver, das beim Reiben den dem Indigo eigentümlichen Kupferglanz aufweist; durch Sublimation erhalten, liefert es purpurfarbige, blättrige, nadel- oder prismenförmige Kristalle, die im durchfallenden Lichte tief dunkelblau erscheinen (Fig. 80). Das Indigblau ist geruch- und geschmacklos, unlöslich in Wasser, Äther, verdünnten Säuren und Alkalien, wenig löslich in heißem Weingeist und Terpentinöl, hingegen relativ leicht löslich in Benzin, Chloroform und Petroleum mit blauer Farbe. Aus heißem Terpentinöl und Anilin erhält man wohl ausgebildete blaue Kristalle. Bei vorsichtigem Erhitzen auf  $290^{\circ}$  verflüchtigt sich das Indigblau in purpurfarbenen Dämpfen, die sich zu charakteristischen, in Fig. 80 abgebildeten Kristallen kon-

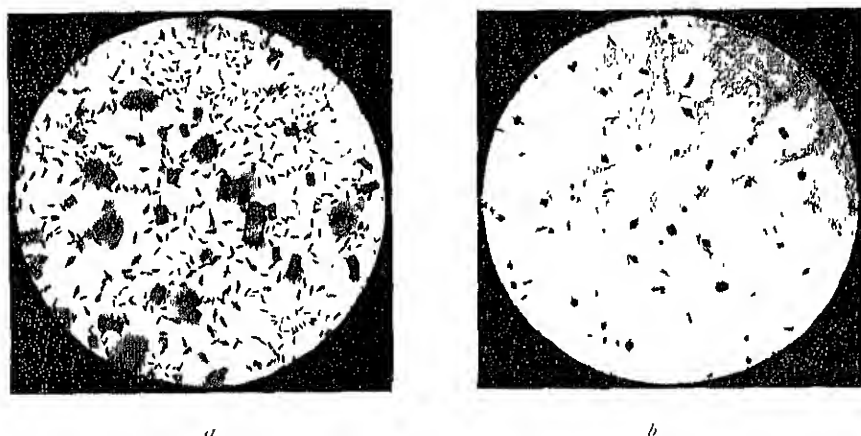


Fig. 80

Indigblaukristalle, durch Sublimation gewonnen. *a* aus einem Indigoziegel, *b* direkt aus einem zerkleinerten Blattstück von *Plagus grandiflorus*. Vergr. 180

densieren. Das Indigblau hat die Eigenschaft, in alkalischer Lösung mit reduzierenden Substanzen farbloses Indigweiß,  $C_{16}H_{12}N_2O_2$ , zu liefern, das sich in Alkalien leicht löst und bei Luftzutritt wieder zu unlöslichem Indigblau oxydiert. In konzentrierter Schwefelsäure wird es mit schönblauer Farbe unter Bildung von Sulfosäuren gelöst.

#### Nachweis

Um rasch zu entscheiden, ob eine Pflanze Indigo liefert, empfiehlt sich (MOLISCH IV) folgendes Verfahren: Man kocht etwa  $\frac{1}{2}$  Minute Fragmente der Pflanze in der Eprouvette mit verdünntem Ammoniak (98 cem Wasser und 2 cem käuflichem Ammoniak), filtriert über einen Platinkonus und schüttelt nach dem Abkühlen mit wenig Chloroform aus. Denselben Versuch vollführt man anstatt mit Ammoniak mit 2proz. Salzsäure. Enthält die Pflanzenprobe Indican, so färbt sich bei einem der beiden oder bei beiden Versuchen die Chloroformschicht blau oder violett, weil das beim Kochen abgespaltene Indigblau von Chloroform leicht aufgenommen wird.

Der Umstand, daß das Indican bei gewissen Pflanzenarten durch Ammoniak gespalten wird, bei anderen z. B. beim Färbeknöterich, *Polygonum tinctorium*, nicht, spricht dafür, daß das Indican nicht in allen Indigopflanzen identisch sein dürfte (MOLISCH IV, 271). Wie sehr ich mit dieser Behauptung Recht hatte, geht aus den Untersuchungen BEIJERINCKS hervor, der ja für den Waid eine von Indican verschiedene Muttersubstanz des Indigblaus nachgewiesen hat.

Für den mikrochemischen Nachweis empfiehlt sich folgende Methode: Die Alkohol- und Ammoniakprobe (MOLISCH IV, VIII). Man bringe die Pflanzenteile in ein zylindrisches, mit gut eingeriebenem Stöpsel verschließbares Glasgefäß von etwa 100 bis 200 ccm Volumen und stelle gleichzeitig auch eine kurze Epruvette mit absolutem Alkohol oder Ammoniak ein. In dieser Atmosphäre verweilen die Objekte gewöhnlich 24 Stunden. Dünne Pflanzenteile können auch kürzere Zeit darin belassen werden, dickere hingegen (Stengel, Scheinknollen von Phajus usw.) müssen, wenn sie nicht gehörig zerkleinert worden sind, mehr als einen Tag den Dämpfen ausgesetzt bleiben. Falls mit dem längeren Verweilen in dem Alkoholdampf die Gefahr einer Austrocknung verknüpft sein sollte, kann man ihr passend dadurch vorbeugen, daß man die Innenseite des Glasgefäßes mit nassem Filtrierpapier auskleidet.

Während des Verweilens der Pflanzenteile in der Alkoholatmosphäre erleidet das Indican in den Zellen eine Zerlegung, was sich z. B. an den weißen Blüten von *Calanthe* durch eine intensive Blaufärbung und an grünen Organen, z. B. an den Blättern von *Polygonum tinctorium*, *Calanthe*, Phajus und anderen wegen des das Indigblau deckenden Chlorophyllfarbstoffes durch eine entsprechende Verfärbung zu erkennen gibt. Nach der Behandlung mit den erwähnten Dämpfen legt man die Objekte in absolutem Alkohol ein, um das Chlorophyll zu extrahieren. Sobald dieses weggeschafft ist, gibt sich die Verteilung des Indigblaus, besonders auf weißer Unterlage, durch eine mehr oder minder intensive Blaufärbung zu erkennen.

Zum Zwecke der mikroskopischen Untersuchung bittet man Schnitte oder Bruchstücke der in der eben angegebenen Weise behandelten Pflanzenobjekte entweder direkt oder noch besser nach dem Abspülen in reinem Wasser in Chloralhydrat (5 Teile Chloralhydrat auf 2 Teile Wasser) ein, worin die Gewebe sich schön aufhellen und das Indigblau deutlich erkennen lassen.

Diese Methode hat überdies den großen Vorteil, daß man nach der Extraktion des Chlorophylls gewöhnlich schon mit bloßem Auge die Verteilung des Indigblaus in den verschiedenen Organen oder in der ganzen Pflanze übersieht. So läßt ein nach dem erwähnten Verfahren (Alkoholdampf) behandelter blühender Zweig vom Färbeknöterich die Laubblätter, abgesehen von der Mittelrippe und den Seitennerven, tiefblau, die Oehren, den Stengel und die Blüten aber in ihrer natürlichen Farbe erscheinen. Es leistet somit diese Methode für den Indicannachweis Analoges wie die sogenannte SACHSsche Jodprobe für den Stärkenachweis.

Es muß hervorgehoben werden, daß es durchaus nicht gleichgültig ist, ob man für die Indicanprobe Alkohol, Ammoniak oder Chloroform verwendet, da die verschiedenen Indigo liefernden Pflanzen darauf vor-

schieden reagieren. Daher muß für jede Pflanzenart erprobt werden, womit die Probe ausgeführt werden soll. Bei Phajus und Calanthe z. B. erhält man die besten Resultate mit Alkohol, hingegen bei Isatis (wo als Muttersubstanz des Indigblaus eine Indoxylverbindung vorliegt) nicht mit Alkohol, sondern mit Ammoniak (MOLISCH VIII, 229).

Das Indigblau läßt sich auch direkt aus dem Blatte heraussublimieren. Es genügt, ein Stück Blatt von Phajus oder Isatis zu verreiben und das Geröbssel der Sublimation auszusetzen. Man erhält dann ein Sublimat, bestehend aus bräunlichen Tröpfchen und zahlreichen tiefblauen Kriställchen: Nadeln, Prismen, Spindeln, T-förmige Gebilde, rechtwinklige Täfelchen mit oft so stark eingebuchteten Kanten, daß sie wie Kreuze erscheinen u. a. (Fig. 80 b).

Mikroskopisch läßt sich das Indigblau im Zellinhalt gewöhnlich in Form zahlreicher tiefblauer Körnchen oder Kriställchen erkennen, die, bald zerstreut oder zu kleinen Häufchen angeordnet, herumliegen und die Löslichkeit des Indigblaus erkennen lassen.

BEJERINCK (III, 125) hat darauf aufmerksam gemacht, daß bei gewissen Indicanpflanzen, z. B. bei Indigofera, durch die Alkohol- oder Ammoniakprobe nur ein Teil des Indicans in Indigoblan umgewandelt wird. Er erklärt dies so, daß durch den Alkohol oder das Ammoniak nicht nur das Plasma getötet, sondern auch das Enzym zerstört wird, so daß das Indican nicht zerlegt werden kann. Er schlägt daher vor, die Pflanzenteile zuerst der Luft vollständig zu entziehen, sie hierdurch zu töten und dann erst dem Ammoniakdampf auszusetzen. Dieses doppelte Ziel, das Plasma zu töten und das Indoxyl frei zu machen, erreicht man nach BEJERINCK durch völliges Untertauchen der Blätter in Quecksilber. Hierbei sterben die Blätter bald ab, Enzym und Indican mischen sich und können aufeinander wirken. Bei günstiger Temperatur ist das Indican nach wenigen Stunden zersetzt, das freigewordene Indoxyl verbleibt im Blatte, und wenn dann die Blätter längere Zeit dem Ammoniakdampf ausgesetzt werden, so bildet sich reichlich Indigblau, das nach Wegschaffung des Chlorophylls mit heilem Alkohol und etwas Salzsäure zur Anschauung kommt. Alte Indigofera-Blätter, die nach der Alkoholprobe behandelt, ganz farblos bleiben, zeigen nach BEJERINCK nach dem Quecksilber-Ammoniak-Experiment eine intensive Blaufärbung.

Sitz des Indicans. Das Indican kann bei den verschiedenen Indigopflanzen in verschiedenen Organen und Geweben auftreten, doch liegt seine Hauptmasse wohl in der Regel in den Laubblättern, zumal in den jungen, sich noch entfaltenden. Innerhalb des Laubblattes findet sich das Glykosid gewöhnlich im chlorophyllführenden Mesophyll und in der Oberhaut. Die Wurzel enthält wenig oder kein Indican, Samen und Frucht sind bei den untersuchten Arten frei davon (MOLISCH IV, 288).

Das Indican wird in der Zelle gewöhnlich durch ein Ferment gespalten und es ist die Frage, ob Indican und Ferment in getrennten Elementen oder in ein und derselben Zelle vorkommt, und wenn das letztere der Fall sein sollte, ob das Indican und Ferment innerhalb der Zelle getrennt lokalisiert erscheinen. MOLISCH (VIII) hat schon darauf aufmerksam gemacht, daß in Blättern von Phajus und Calanthe, die der Alkoholprobe, und in Blättern von Isatis, die der Ammoniak-

probe unterworfen wurden, es hauptsächlich die Chlorophyllkörner sind, die die Blaufärbung aufweisen. Der Grund konnte ein zweifacher sein. Entweder führen die Chlorophyllkörner das Ferment oder das Indican oder sie enthalten beides. BELJERINCK (II, IV) ist nun der Meinung, daß das Plasma das Indican und die Chlorophyllkörner das Ferment führen, und er stützt sich hierbei auf folgende Versuche (a u. b).

a) Ein frischer, nicht zu dünner Querschnitt durch das Blatt einer Indicanpflanze (*Phajus grandiflorus*) wird in eine siedende Mischung von konzentrierter Salzsäure und Eisenchlorid getaucht. Das Indican wird darin sofort zersetzt und das freigewordene Indoxyl wird rasch zu Indigblau oxydiert, das sich im Mikroskop in Form blauer Körnchen, ausschließlich im Plasma des grünen Parenchyms und der Epidermis zu erkennen gibt. — Werden lebende Schnitte in eine siedende Mischung von konzentrierter Salzsäure und Isatin eingetaucht, so geht das Indican in Indigrot über und dieses setzt sich gleichfalls im Plasma in Form roter Kristallnadeln ab. Das Indican hat daher nach BELJERINCK ausschließlich seinen Sitz im Plasma.

b) Werden mikroskopische, lebende Schnitte in eine Indicanlösung (Dekokt von Indigofera oder Polygonum) getaucht, so werden sie in kurzer Zeit schwärzlich-blau und die mikroskopische Untersuchung lehrt, daß sich das Indigblau nur in den Chlorophyllkörnern des grünen Mesophylls und in den Schließzellen der Epidermis niederschlägt. Tötet und extrahiert man aber die Schnitte vorher mit Alkohol, so breitet sich das Enzym in der Zelle aus, und wenn dann die Schnitte in eine Indicanlösung getaucht werden, so färben sie sich gleichmäßig intensiv blau. Daraus schließt BELJERINCK, daß das Ferment seinen Sitz ausschließlich in den Chromatophoren hat, und dasselbe gilt nach ihm auch für das Ferment des Waiids, die Isatase, die die Spaltung der Indoxylverbindung bewirkt<sup>1)</sup>.

Ich habe hier die Anschauung BELJERINCKs über die Lokalisierung des Indicans und des Ferments wiedergegeben, ich bemerke aber, daß ich bei Wiederholung seines unter a) geschilderten Versuches gefunden habe, daß ich nicht bloß das Plasma, sondern auch die Chlorophyllkörner, und diese sind nicht selten, intensiv blaufärbt gesehen habe. Daher dürfte wohl über die Verteilung des Indicans und des zugehörigen Fermentes innerhalb der Zelle noch nicht das letzte Wort gesprochen sein.

LEAKE (I) führt den mikrochemischen Nachweis des Indicans in folgender Weise durch, die leider sehr umständlich ist.

Kleine Gewebestücke oder Schnitte werden in eine Mischung von

Eisessig . . . . .	2 cem
Konz. Schwefelsäure . . . . .	1 cem
Ammonumpersulfat . . . . .	0,5 g
Wasser . . . . .	100 cem

einggelegt und hier gewöhnlich 4—6 Stunden oder, wenn notwendig, höchstens bis 12 Stunden belassen, bis sie von der Flüssigkeit vollständig durchdrungen sind. Dann wird das Material in täglich gewechseltem 50proz. Alkohol 3—4 Tage lang

<sup>1)</sup> Aus einer Stelle bei BELJERINCK (IV, 502) scheint hervorzugehen, als ob ich die Hypothese aufgestellt hätte, daß das Indican in naher Beziehung zur CO<sub>2</sub>-Assimilation im Chlorophyllkorn steht. Das ist aber nicht richtig, denn ich habe nur die Möglichkeit einer solchen Beziehung angedeutet und auch ihre Unwahrscheinlichkeit ausdrücklich betont (MOLISCH VIII, 232).

gewaschen, in Paraffin eingebettet und geschnitten. Die Schnitte werden nach Behandlung mit Xylol und abs. Alkohol für 12 Stunden in eine Mischung von Hamatoxylin und Eosin (DELAFIELDs Hämatoxylin 50 cem und Wasser 300 cem) und dann solange in sauren Alkohol (1proz. HCl in 50 % Alkohol) eingelegt, bis sie dem freien Auge farblos erscheinen. Nun werden die Schnitte, um den Alkohol und die Säure zu entfernen, mit Wasser gewaschen, für mindestens 1 Stunde in eine 1proz. Lösung von GRÜBLERSchem, wasserlöslichen Eosin gebracht, rasch mit Alkohol entwässert, in Xylol überführt und endlich in Balsam eingeschlossen. Ich glaube nicht, daß diese überflüssig umständliche Methode gegenüber den früher erwähnten einen Fortschritt bedeutet, auch möchte ich bezweifeln, daß sich gerade dieses Verfahren, bei welchem die Zelle sicherlich stark in Mitleidenschaft gezogen wird, dazu eignet, zu entscheiden, ob die Chromatophoren oder das Plasma das Indican enthalten.

### 5. Die Farbstoffe der Chromatophoren.

Farbstoff ist kein chemischer Begriff. Wenn also in diesem Kapitel eine Reihe von Körpern im Zusammenhange behandelt werden, so soll selbstverständlich damit nicht angedeutet werden, als ob sie miteinander verwandt wären. Bei dieser Gruppierung waren nur praktische Gesichtspunkte maßgebend, denn viele Farbstoffe sind ihrer chemischen Natur nach so wenig bekannt, daß sie sich sonst schlecht unterbringen lassen.

Die für die Pflanze so überaus wichtigen, stets im Plasma eingebetteten Chromatophoren enthalten einige sehr charakteristische Farbstoffe. Obwohl sie in ihren Eigenschaften sehr voneinander abweichen und vielfach gar keine Verwandtschaft bekunden, erscheint es doch zweckmäßig, sie vorläufig zu einer Gruppe zu vereinigen, da sie alle das gemeinsam haben, daß sie an lebende plasmatische Gebilde, an die Chromatophoren gebunden sind. Es liegt dem Plane dieses Buches ferne, die große, die Makroanalyse betreffende Literatur dieser Pigmente hier zu behandeln, es wird daher naturgemäß nur soweit darauf Rücksicht genommen werden, als es zur Orientierung und für die mikrochemische Schilderung notwendig ist.

#### Chlorophyll.

Unter den Chromatophoren sind wohl die grünen, gewöhnlich als Chlorophyllkörner bezeichneten, die wichtigsten. Sie sind im Pflanzenreiche überaus weit verbreitet und stellen die Organe der Kohlensäure-Assimilation dar.

#### Eigenschaften.

SORBY, BORODIN, MONTEVERDE, TSCHIRCH, KRAUS G., MARCHELEWSKY, SCHUNK, HANSEN, TSWETT, HOPPE-SEYLER und andere haben die Kenntnisse über den Chlorophyllfarbstoff gefördert, in jüngster Zeit aber haben die glänzenden und umfassenden Forschungen WILLSTÄTTERS (I—V) und seiner Schüler uns über diesen wichtigsten der Pflanzenfarbstoffe einen tieferen Einblick verschafft.

a) Amorphes Chlorophyll. Nach WILLSTÄTTER enthalten die Chloroplasten in kolloidalem Zustande, gemischt mit farblosen Substanzen, vier Pigmente, nämlich zwei einander verwandte Chlorophyllfarbstoffe und zwei gelbe:

Chlorophyllkomponente a von der Zusammensetzung  $C_{55}H_{72}O_5N_4Mg$ , blauschwarz, in Lösung grünblau;

Chlorophyllkomponente b von der Zusammensetzung  $C_{55}H_{70}O_6N_4Mg$ , grünschwarz, in Lösung reingrün;

Carotin von der Formel  $C_{40}H_{56}$ , orangerote Kristalle;

Xanthophyll von der Formel  $C_{40}H_{56}O_2$ , gelbe Kristalle.

In allen untersuchten Pflanzen erwiesen sich die Farbstoffe identisch. Das Chlorophyll enthält 2.7% Magnesium und in Übereinstimmung mit den Angaben von MOLISCH (X) kein Eisen. Bei der Verseifung liefert das Chlorophyll den stickstofffreien Alkohol Phytol ( $C_{20}H_{40}O$ ); das native Chlorophyll kann somit als Phytol betrachtet werden, der mit den beiden grünen Komponenten  $\alpha$  und  $\beta$  verbunden ist. Die ungemein charakteristischen Spektren von  $\alpha$  und  $\beta$  zeigt die Fig. 81.

b) Kristallisiertes Chlorophyll. Die frisch bereitete alkoholische Chlorophylllösung aus Blättern enthält die gelben Farbstoffe unverändert, die grünen aber nicht, weil, wie WILLSTÄTTER gezeigt hat, sich die grünen durch ein Enzym (Chlorophyllase) unter Beibehaltung ihrer Farbe ändern.

Nach WILLSTÄTTER besteht die Umwandlung des amorphen Chlorophylls darin, daß unter dem Einflusse der im Chloroplasten vor-

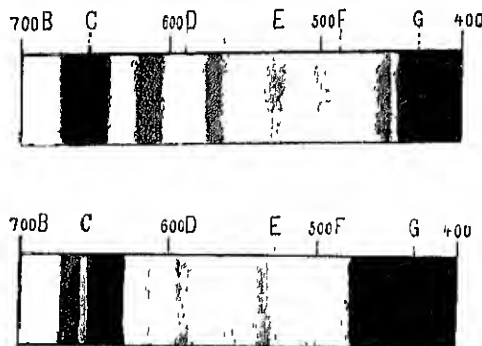


Fig. 81.

Absorptionsspektrum von reinem Chlorophyll  $\alpha$  (oben) und Chlorophyll  $\beta$  (unten).

Nach WILLSTÄTTER.

sind ein Gemisch der Äthylchlorophyllide  $\alpha$  und  $\beta$ . Sie bilden in wechselndem Verhältnis Mischkristalle. Nach WILLSTÄTTER hat das

Äthylchlorophyllid  $\alpha$  die Formel  $C_{37}H_{70}O_5\frac{1}{2}N_4Mg$

"  $\beta$  " "  $C_{37}H_{70}O_6\frac{1}{2}N_4Mg$

Das Chlorophyll ist in Alkohol, Äther, Chloroform, Schwefelkohlenstoff, Olivenöl, Benzin und anderen organischen Lösungsmitteln mit grüner Farbe und roter Fluoreszenz löslich. Sein Absorptionsspektrum ist sehr charakteristisch.

#### Nachweis.

1. Reaktion von MOLISCH (IX). Wird ein Chlorophyllkörper führendes Gewebestück, das mit Wasser nicht benetzt sein darf, mit wässriger gesättigter Kalilauge versetzt, so färben sich die Chlorophyllkörner nahezu augenblicklich gelbbraun, um nach längstens  $\frac{1}{4}$ — $\frac{1}{2}$  Stunde wieder von selbst grün

handenen Chlorophyllase der mit dem Lösungsmittel gebotene Alkohol an Stelle des Phytols tritt und sich mit dem chromophoren Chlorophyllbestandteil verbindet. Bei Darbietung von Äthylalkohol entsteht Äthylchlorophyllid, bei der von Methylalkohol das entsprechende Methylchlorophyllid.

Die grünen Kristalle, die BORODIN (I) seinerzeit durch Betupfen von Pflanzenschnitten mit Alkohol erhalten hat und die man bisher als „kristallisiertes Chlorophyll“ bezeichnet hat,

zu werden. Der Umschlag der gelbbraunen in die grüne Färbung erfolgt sofort beim Erwärmen bis zum Sieden oder bei Zufuhr von Wasser, etwas weniger rasch nach Zufuhr von Alkohol, Äther oder Glycerin. Zur Einübung seien die dünnen Blätter von Moosen (*Mnium*), *Elodea*, ferner Farnprothallien und Algenfäden (*Cladophora*, *Spirogyra*) empfohlen. Die Reaktion gelingt auch mit Chlorophyllkörnern, die durch siedendes Wasser oder durch Austrocknen getötet wurden, ja auch mit grünen Blättern, die jahrelang im Herbar lagen. Diese von MOLISCH (IX) entdeckte braune Phase des Chlorophylls hat, wie aus WILLSTÄTTERS Studien (V, 27 u. 144) hervorgeht, auch bei den neuesten Untersuchungen über Chlorophyll gute Dienste geleistet.

2. Phaeophytin (Chlorophyllan)-Reaktion. Behandelt man grüne Gewebe mit verdünnter Salzsäure (1 Vol. konzentrierte Salzsäure | 4 Vol. Wasser), so tritt zunächst eine Vorfärbung nach Goldgelb bis Braungelb ein. Nach einigen Stunden oder schon früher erscheinen dann in den Chlorophyllkörnern, vornehmlich an ihrer Peripherie dunkle, braune oder rostfarbige Massen. Aus diesen entwickeln sich bei älteren Präparaten braune, kürzere, gerade oder gekrümmte, auch wellenartig gebogene Stäbchen mit spitzen oder stumpfen Enden, gerade gebogene oder schraubig gewundene Nadeln oder Fäden (Fig. 82). Diese äußerst charakteristische Reaktion wurde von PRINGSHEIM (I) aufgefunden, irrtümlich nicht auf Chlorophyll, sondern auf eine ganz hypothetische Substanz (Hypochlorin) zurückgeführt und erst später als Chlorophyllan-Reaktion von anderer Seite (A. MEYER I; TSCHIRCH III, 42) erkannt. Durch die Säure wird das Chlorophyll zersetzt und liefert das im durchfallenden Lichte braune Produkt, das Chlorophyllan.

Das von HOPPE-SEYLER dargestellte Chlorophyllan war keine reine Substanz, sondern vermengt mit Phospholipoiden, bestand aber wohl der Hauptmasse nach aus jenem Körper, den WILLSTÄTTER aus dem Chlorophyll durch Säure, insbesondere durch alkoholische Oxalsäurelösung in reiner Form abschied und als Phaeophytin bezeichnet hat.

„Phaeophytin ist ein Wachs, es wird nicht in deutlich kristallisierter Form erhalten, bildet aber baumähnliche kristallinische Gebilde. Es ist blanschwarz gefärbt, in Lösung olivbraun und bei großer Schichtendicke in der Durchsicht rot“ (WILLSTÄTTER V, 261).

Wird das Phaeophytin direkt im Chloroplasten, sei es mit konzentrierter alkoholischer Oxalsäure, sei es mit verdünnter Salzsäure gewonnen, so stellt es wahrscheinlich keinen ganz reinen Körper dar, und daher mag es wohl kommen, daß es mit der oben gegebenen Beschreibung WILLSTÄTTERS nicht ganz übereinstimmt. Im Chloroplasten erscheint es braun und in den bereits erwähnten Formen.

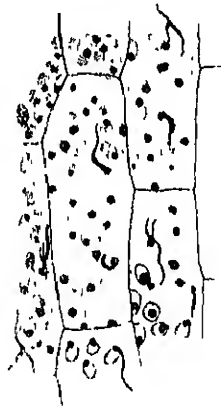


Fig. 82.

*Elodea canadensis*-Blattzellen, die Chlorophyllan-Reaktion zeigend nach Behandlung mit verd. Salzsäure. Die in die Chlorophyllkörner eingezeichneten schwarzen Punkte und Fäden stellen das braune Chlorophyllan dar (Vergr. 180).



Wie Salzsäure, wirken auch andere verdünnte Säuren, Pikrinsäure, Schwefelsäure (5—10%). A. MEYER (I, 16 u. 18) empfiehlt besonders Essigsäure (1 Vol. Essigsäure + 2—4 Vol. Wasser) und zur rascheren Erzeugung der braunen Kristalle zuerst Behandlung mit verdünnter Salzsäure und nachherige Behandlung des mit Filtrierpapier abgetrockneten Schnittes mit reinem Eisessig.

Das Phaeophytin läßt sich nach meinen Erfahrungen in jedem Tropfen alkoholischer Chlorophylllösung in folgender Weise zur Anschauung bringen. Wird eine recht konzentrierte Lösung von Chlorophyll z. B. aus Brennessel, Georginen-, Ipomoea- oder Selaginella-Blättern in starkem Alkohol auf einen Objektträger aufgetropft und verdampfen gelassen, so sieht man im Mikroskop einen homogenen grünen Rückstand. Betupft man diesen am Rande, wo das Chlorophyll sich als tief grüner Saum abgeschieden hat,



Fig. 83

Phaeophytin-Kristalle, gewonnen aus einem Tröpfchen Chlorophylllösung. Vergr. 285.

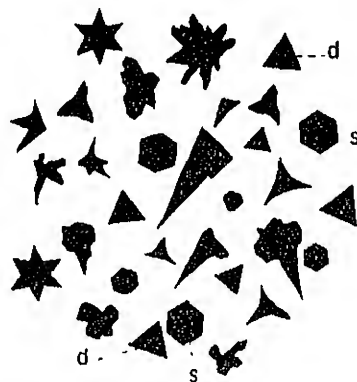


Fig. 81

Athylechlorophyllid-Kristalle der Georgine. Besonders bezeichnend sind die 3- und 6eckigen Kristalle *d* und *s*. Vergr. 285.

mit Chloroform, so löst sich der Rückstand rasch und nach mehreren Stunden oder nach einem Tage bilden sich in der zurückgebliebenen Masse zahllose unregelmäßige, bräunlich erscheinende Phaeophytin-Warzen oder es entstehen dendritische oder lockenförmige Gebilde (Fig. 83). Ähnliche Ausscheidungen erhält man nach Betupfen mit Anilin oder Aceton.

Die Chlorophyllan-Kristalle sind schwer löslich in kaltem Alkohol, langsam in Petroläther, sehr rasch aber in Äther, Benzol, Aceton und Chloroform. —

3. Überführung in „kristallisiertes Chlorophyll“. Betupft man Schnitte gewisser grüner Blätter mit Alkohol und läßt man daß Präparat unter Deckglas langsam austrocknen, so entstehen, wie zuerst BORODIN (I) gezeigt hat, eigentümliche grüne bis blauschwarze Kristalle, die aber nicht reines Chlorophyll, sondern wie bereits be-

merkt, Äthylchlorophyllid darstellen. Größe, Form und Farbenton schwanken. Dominierend erscheinen gleichseitige, mitunter an Tetraeder erinnernde Dreiecke, ferner Sechsecke, Sterne und zahlreiche andere Formen, darunter auch Dendrite (Fig. 84). Diese Kristalle zeichnen sich im Gegensatz zu amorphem Chlorophyll durch große Resistenz gegenüber direktem Sonnenlicht und verdünnten Säuren aus. In Alkohol und Chloroform lösen sie sich leicht, hingegen sehr schwer in Benzin. Nicht jede beliebige Pflanze eignet sich zur Darstellung der Kristalle, denn unter 776 Arten konnte BORODIN nur bei etwa 24% die Kristalle gewinnen. Zu den Pflanzenfamilien, die große Neigung zur Bildung solcher Kristalle zeigen, gehören die Pomaceen und Amygdaleen, entgegengesetzt verhalten sich Pflanzen, die reich an organischen Säuren sind, wie Rumex oder Oxalis. Gute Resultate geben mittelalte Blätter von Dahlia. Grüne Kristalle und Carotinkristalle erhielt in verschiedenen Algen nach Anwendung von Alkohol, Estern, Aldehyden und Ketonen auch LIEBALDT (1).

Prachtvolle Kristalle von Äthylchlorophyllid erhielt ich in folgender Weise: Frische konzentrierte alkoholische Chlorophylllösung wird am Objektträger unter ein großes Deckglas von 24×30 mm gebracht, das auf einer Kante durch einen dicken Glasfaden derart gestützt ist, daß ein keilförmiger Raum zwischen Objektträger und Deckglas entsteht. Laßt man die Lösung langsam verdunsten und dann noch 1-2 Tage stehen, so erhält man die in der Fig. 84 abgebildeten Kristalle.

Methylchlorophyllid kann gleichfalls aus frischen Blättern kristallisiert gewonnen werden,

wenn man Schnitte durch Blätter von *Heracleum* mit 70proz. Methylalkohol unter Deckglas behandelt und diesen dann verdunsten laßt (Fig. 85). Es scheiden sich dann grüne Schollen, unscharf begrenzte Klumpen oder Kristallrauten ab (WILLSTATTER V). Bessere Resultate als mit Schnitten erhielt ich mit Flächenstücken der Blätter (Georgine) und namentlich mit ganzen jungen Blättern von *Selaginella Martensii*.

Da die Überführung des amorphen Chlorophylls in kristallisiertes nicht immer gelingt, so wird man von diesem Verfahren wohl nur selten Gebrauch machen, zumal ja die beiden Reaktionen 1 und 2 ausgezeichnete Dienste leisten; ich glaube aber BORODINs Entdeckung nicht übergehen zu sollen, da sie mehrfaches Interesse bietet und da der Mikroskopiker dem kristallisierten Chlorophyll in Alkoholmaterial nicht selten begegnet.

4. Die Fluoreszenzprobe gelingt auch mit mikroskopischen Schnitten sehr gut, wenn man das Gewebe unter Deckglas mit Alkohol

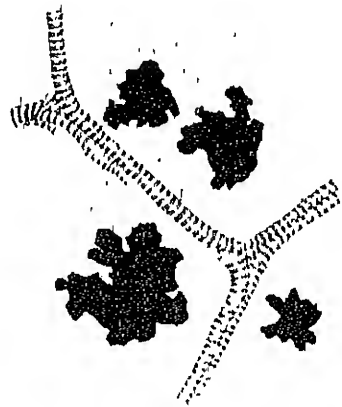


Fig. 85

Kristallinisches Methylchlorophyllid eines Blattes von *Heracleum sphondylium*. Vergr. 285

behandelt, das Chlorophyll in Lösung überführt und diese dann direkt oder in der Kapillare im konvergenten Lichtkegel in direktem Sonnenlicht beobachtet. Die Lösung erscheint dann blutrot.

#### Carotine.

Der Begriff Carotin hat sich nach und nach zu einem Gruppenbegriff entwickelt. Ursprünglich verstand man darunter den orangegelben Farbstoff der Wurzel von *Daucus Carota*. Später hat man ganz ähnliche Farbstoffe in den Chlorophyllkörnern der Blüten, Früchte, der herbstlich verfärbten gelben Blätter und anderwärts gefunden und mit verschiedenen Namen (Chlorophyllgelb, Xanthophyll, Erythrophyll, Xanthocarin, Etiolin, Phycoxanthin usw.) bezeichnet. Heute weiß man, daß viele dieser Farbstoffe zwar nicht identisch, aber doch miteinander verwandt sind und daher zur Gruppe der Carotine zusammengefaßt werden können.

Mit WILLSTÄTTER (III) kann man die gelben Begleiter des Chlorophylls in zwei Gruppen einteilen, in die Carotin- und in die Xanthophyllgruppe. Die einen lösen sich in Benzin leicht und in Alkohol schwer, die anderen verhalten sich umgekehrt. Aus jeder der beiden Gruppen hat man je einen Körper rein dargestellt und genauer studiert. Das Carotin aus der Reihe der benzinlöslichen und das Xanthophyll aus der der benzinschwerlöslichen Farbstoffe.

#### Das Carotin, $C_{40}H_{56}$ .

Dieser Kohlenwasserstoff ist in den Chlorophyllkörnern allgemein verbreitet; er wurde von WILLSTÄTTER und MIEG (IV) rein dargestellt und genauer charakterisiert. Er kristallisiert in rhombenförmigen, fast quadratischen Kristalltafeln mit häufigen Einkerbungen; die Kristalle sind kupfrig rot und sammetartig glänzend. Im durchfallenden Lichte erscheinen die Kristalle selbst in dünner Schicht rot, während Xanthophyll gelb ist. Schwer löslich in siedendem, fast unlöslich in kaltem Alkohol, ziemlich schwer löslich in Petroläther, Aceton, leicht in Benzol, sehr leicht in Chloroform und besonders in Schwefelkohlenstoff. Carotin nimmt leicht Sauerstoff auf, ist autoxydabel, gibt mit konzentrierter Schwefelsäure eine tiefblaue Farbenreaktion, ebenso mit konzentrierter Salpetersäure und mit Salzsäure-Phenol oder -Thymol. Mit Brom wird es kantharidengrün, in der Durchsicht blau.

#### Xanthophyll, $C_{40}H_{56}O_2$

begleitet das Chlorophyll und Carotin in den Chlorophyllkörnern. WILLSTÄTTER charakterisiert es etwa so: Vierseitige, oft trapezförmige Täfelchen, häufig mit Einkerbungen durch Bildung schwalbenschwanzförmiger Zwillinge, auch (aus Alkohol) lanzett- und keilförmig zugespitzte Prismen. Die Kristalle sind dunkelbraunrot mit starkem, stahlblauem Reflex, in der Durchsicht gelb und unter dem Mikroskop nur, wo zwei Kristalle sich kreuzen, orangerot. Ziemlich schwer löslich in kaltem Äthylalkohol, in Petroläther unlöslich (Unterschied von Carotin), in Äther und Aceton ziemlich leicht löslich, in Benzol und Schwefelkohlenstoff in der Kälte ziemlich schwer, in Chloroform sehr leicht. Xanthophyll ist gleichfalls ungesättigt und autoxydabel. Es zeigt die typische Carotinreaktion mit konzentrierter Schwefelsäure.

Eine Übersicht über die Eigenschaften der beiden behandelten Körper ergibt sich aus der folgenden Tabelle (WILLSTÄTTER III, 689)

	Carotin	Xanthophyll
Formel . . . . .	$C_{40}H_{56}$	$C_{40}H_{56}O_2$
Aussehen . . . . .	kupfrige Blättchen	pleochromatische, dunkelbraunrote Täfelchen
Kristallhabitus bei mikroskopischen Kristallen . . . .	beinahe quadratische Form	trapezförmig, mit häufiger Zwillingsbildung
Farbe in der Durchsicht . .	rot	gelb bis orange
Schmelzpunkt (unt. Zersetz.)	167,2—168°	172°
Löslichkeit in niedrig siedendem Petroläther . . . .	beträchtlich löslich	unlöslich
Löslichkeit in Alkohol . . .	kalt fast unlöslich, heiß sehr schwer löslich	kalt ziemlich schwer löslich, heiß ziemlich leicht
Löslichkeit in Aceton . . .	recht schwer löslich	leicht löslich
Löslichkeit i. kaltem Schwefelkohlenstoff . . . . .	spielend löslich	ziemlich schwer löslich

#### Nachweis.

1. Kalimethode. Um Carotine im Gewebe oder in der Zelle der Blätter nachzuweisen, verfährt MOLISCH (XI) in folgender Weise: Die frischen grünen Blätter oder kleine Stücke davon werden in 40proz. (Vol.) Alkohol, der 20% (Gewicht) Kaliumhydroxyd gelöst enthält, gelegt und darn mehrere Tage, gewöhnlich so lange bei Abschluß von Licht belassen, bis alles Chlorophyll ausgezogen ist. Um die Absorption von atmosphärischer Kohlensäure durch die Kalilauge zu verhindern, wird die Prozedur in mit gut eingeschliflenen Glasstopfen versehenen Präparatengläsern von verschiedener Größe (100—200 ccm) vorgenommen. So wird oft schon nach einem Tage das Chlorophyll als Alkalichlorophyll dem Blatte völlig entzogen, das Carotin aber bleibt im Blatte zurück. Das Blatt sieht gelb, etwa wie ein etioliertes aus. Das von Chlorophyll also befreite, mehrere Tage in der Kahlauge gelegene Blatt gibt man, um die Kahlauge auszuwaschen, auf mehrere Stunden in destilliertes Wasser und legt dann Fragmente der Blätter zur mikroskopischen Beobachtung und Anfertigung von Dauerpräparaten in reines Glycerin. Man findet dann fast in jeder früher Chlorophyll führenden Zelle das Carotin auskristallisiert. Epidermis und Gefäßbündel sind frei von Farbstoffkristallen, das Assimilationsparenchym ist damit wie besät (Fig 86). Nur in seltenen Fällen kommt es nicht zur Abscheidung von Kristallen, sondern nur zur Ausbildung von Carotintropfen. In solchen Fällen kann Erwärmen bis auf 70—80° die Kristallbildung fördern. So wie grüne Blätter verhalten sich auch etiolierte.

Die Kristalle sind gelborange bis braunorange und zeigen prächtigen Perlmutterglanz, wenn man auf das Präparat einen Lichtkegel wirft und bei schwacher Vergrößerung nur im auffallenden Lichte beobachtet. Ihre Formen wechseln: einzelne Nadeln oder unregelmäßige stern- oder büschelartige Aggregate von solchen, Tafeln mit parallelen oder ausgezackten Rändern, säbel-, hobelspanartige Kristalle, sowie verschieden geformte Schuppen.

Mit konzentrierter Schwefelsäure werden die Kristalle prachtvoll indigblau. Da, wo der Farbstoff nur in Form gelber Tropfen vorliegt oder den Zellinhalt durchtränkt, gibt er sich ebenfalls mit konzentrierter Schwefelsäure durch eine tiefblaue Farbe zu erkennen. Bei Zusatz von Wasser verschwindet die blaue Farbe. Trockenes Schwefeldioxyd färbt gleichfalls indigblau; auch in konzentrierter Salpetersäure nehmen sie diese Farbe an, aber nur kurze Zeit. Mit Bromwasser und Bromdampf werden die Kristalle rasch vorübergehend blau und schließlich farblos. Mit konzentrierter Salzsäure, die etwas Phenol beigemischt enthält, werden sie nach MOLISCH (XI, 25) in kurzer Zeit tiefblau. Wie Phenol wirkt auch Thymol. In Jodechloralhydrat (5 Teile Chloralhydrat, 2 Teile Wasser und Jod im Überschuß) nehmen sie eine schmutziggriene Farbe an. Schließlich sei bemerkt, daß alle angeführten

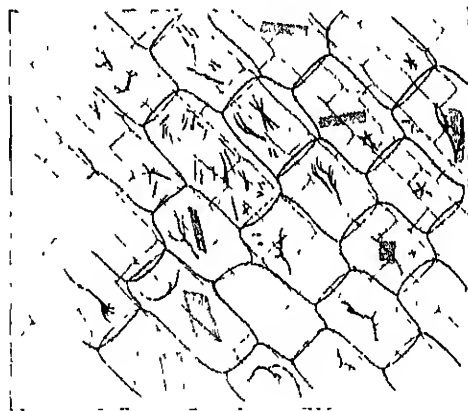


Fig. 86.

Carotinkristalle in einem Eledonblattstück, gewonnen durch die „Kalimethode“. Vorgr. etwa 250.

Reaktionen am besten gelingen, wenn man den in Wasser ausgewaschenen und von KOH befreiten Gewebestücken durch Filterpapier oder im Exsikkator vor der Reaktion das Wasser möglichst entzieht. Sehr gute Resultate liefert die Kalimethode mit den Blättern von *Mimulus moschatus*, *Polygonum tinctorium*, *Mercurialis annua*, *Triticum vulgare*, *Eledon canadensis* u. a.

WISSELSCH (I) fand, daß Carotine sich auch mit Selenensäure und mit gesättigten Lösungen von Antimonchlorid, Zinkchlorid in 25proz. Salzsäure und Aluminiumchlorid in 35proz. Salzsäure blau färben. Die Selenensäure des Handels muß, wenn sie viel Wasser enthält, durch Eindampfen konzentriert werden. Bei Anwendung von Antimonchloridlösung müssen die Präparate erst in Salzsäure gebracht werden, um der Entstehung des in Wasser unlöslichen Antimonchlorids vorzubeugen. Wenn mit Chlorzinklösung die Blaufärbung ausbleiben sollte, so empfiehlt sich schwache Erwärmung. Antimonchlorid eignet sich von den durch WISSELSCH neu empfohlenen Reagentien zur Blaufärbung am besten; es hat gegenüber der Schwefelsäure und dem Chlorzink den Vorteil, daß es die Zellwände nicht so stark angreift.

2. Die Säuremethode. FRANK und TSCHIRCH (III, 92) haben zuerst darauf aufmerksam gemacht, daß man innerhalb der Zellen rote Kristallnadeln erhält, wenn man ganze Blätter in sehr verdünnte Säuren einlegt und sie dann nach dem Auswaschen längere Zeit im Wasser liegen läßt. Die Kristalle stimmen mit den durch die „Kalimethode“ gewonnenen, soweit sich dies auf mikroskopischem Wege feststellen läßt, im wesentlichen überein (MOLISCH XI, 27). TAMMES (I) empfiehlt 1- bis 10proz. Salzsäure, 1- bis 10proz. Oxalsäure, 1- bis 10proz.

Weinsäure und andere. Die Pflanzenteile sollen ein bis mehrere Tage in der Lösung verweilen; bisweilen genügen schon einige Stunden. Schließlich werden die Objekte mehrere Stunden in Wasser ausgewaschen und sogleich untersucht.

Die Säuremethode kann sich mit der Kalimethode an Brauchbarkeit und Zuverlässigkeit nicht messen. Diese hat sich am besten bewahrt, wie auch die umfassenden Untersuchungen WISSELMANN'S (I, 391) bestätigt haben. Eine sehr beschränkte Anwendbarkeit kommt auch der Ausscheidung der Carotine durch (Chloralhydrat, Phenol, Pyridin, Pikolin, Lutidin und Piperidin zu (WISSELMANN I, 393).

3. Die Resorcinmethode (Tswett II, III). Das chlorophyllhaltige Gewebe wird in eine konzentrierte Resorcinlösung (10 bis 12 Teile Resorcin auf 10 Teile Wasser) gebracht, welche plasmatische Stoffe und Lipide vorflüssigt bzw. auflöst. Nach Stunden oder Tagen schießen orangerote Kristallbüschel oder sternartige Aggregate in großer Zahl an. Die Resorcinlösung hat die unangenehme Eigenschaft, sich an der Luft alsbald tief zu bräunen.

Der Mikrohchemiker wird gewöhnlich nicht instande sein, unterm Mikroskop im Gewebe Carotin, Xanthophyll, Lykopen und verwandte gelbe oder rote Farbstoffe voneinander zu unterscheiden, sondern er wird in den meisten Fällen nur sagen können, daß ein carotinartiger Körper, also irgend ein Carotin vorhanden ist. Wenn daher hier das Wort Carotin gebraucht wird, so ist es, falls nichts besonderes bemerkt wird, immer im Sinne eines Gruppenbegriffes genommen, in demselben Sinne wie man von Zucker oder Eiweiß spricht.

#### Vorkommen

Carotin ist im Pflanzenreiche weit verbreitet, was ja auch schon daraus hervorgeht, daß es stets ein Begleitfarbstoff des Chlorophylls ist. Von den Algen bis zu den höchsten Phanerogamen wurde es gefunden, und zwar in den verschiedensten Teilen in Blättern, Blüten, Früchten, Samen und sonstigen Organen (Kohn I). Auch viele Pilze enthalten es (vgl. p. 221). Die von den Carotininen erzeugten Färbennuancen schwanken von gelb nach orange bis rot. Man denke an die gelben Blüten der Rattennelaceen und Compositen und an die roten Früchte des Paradiesapfels, des Giesblatts und anderer. Der Saum der grünlichgelben Nebenkronen von *Narcissus poeticus* ist bekanntlich rot, mit einem Stich in Orange gefärbt. Die diesen Saum zusammensetzenden Zellen sind mit orangeroten Carotinkristallen erfüllt und bedingen die auffallende Färbung des Kronensaumes (Cotner I, 335, Molisch XXIII). Zahlreiche Beispiele von Carotin führenden Chromoplasten in vegetativen Organen machte jüngst Rothert (I) mannhaft. In manchen Fällen kristallisiert das Carotin sogar im Chromatophoren aus, so in der Wurzel von *Daucus Carota*, in den Früchten von *Lonicera Xylosteum*, *Sorbus aucuparia*, *Rosa arvensis*, in den Blüten von *Tropaeolum majus* und anderen (Schimper I, 120 u. d. folg., Cotner I).

Ausnahmsweise kommen in Laubblättern auch rote Chromoplasten vor, z. B. in dem im Winter sich rot oder braun färbenden Laube verschiedener Coniferen, in den Blättern von *Selaginella*, Aloë (Molisch XXIII), *Potamogeton*-Arten (Littre) und alten sich rot verfärbenden Blättern von *Rosa lutea* und *odorata*. Die Blatt- und Blütenstiele von *Adoxa moschatellina* enthalten fast nur rote Chlorophyllkörner. Die Chlorophyllkörner vieler Aloë-Arten nehmen infolge intensiver Belichtung eine rote Farbe an, färben sich bei darauf folgender längerer

Verfinsterung wieder normal grün, bei neuer starker Bestrahlung abermals rot, um bei lang andauerndem, direktem Sonnenlichte meistens wieder von selbst grün zu werden. Die Ursache der roten Färbung ist hier ein Carotin.

Bei einigen Liliaceen (*Dracaena draco*, *D. reflexa*, *D. glabra*, *Aletris fragrans*, *Sansiviera maculata*, *S. arborea* und *S. cylindrica*) sind die Wurzeln gelb bis orangefarbig gefärbt. Nach den Untersuchungen von SCHMIDT (I), die ich im wesentlichen bestätigen kann, rührt die Färbung von einem Carotin her, das aber hier nicht in Chromatophoren, sondern gelöst im Zellinhalt auftritt. Es findet sich in der Exodermis vor, deren Zellen in den von mir untersuchten Fällen einen klaren, orange-gelben Saft enthalten. Häufig liegen in diesem Saft einzelne oder viele tieforangefarbene, rubin- oder granatrote Kügelchen von 2–9  $\mu$  Größe, die die Reaktionen des Carotins zeigen.

Über die Carotine der Pilze vgl. p. 221.

### Phaeophyll.

#### a) Bei Phaeophyten oder Braunalgen.

Die Braunalgen verdanken ihre braune Farbe einem in den Chromatophoren neben Carotin (Gruppenbegriff) und Fukoxanthin befindlichen braunen Farbstoff, dem Phaeophyll (MOLISCH XIII). Man war früher allgemein der Meinung, daß die Braunalgen einen angeblich im Wasser löslichen braunen Farbstoff besitzen, der das Chlorophyll maskiert und Phykophäin genannt wurde. MOLISCH (XIII) hat aber gezeigt, daß das sogenannte Phykophäin erst nach dem Absterben, z. B. bei Behandlung der Algen mit heißem Wasser, aus einem Chromogen entsteht und in der lebenden Pflanze gar nicht vorkommt. Die Ansicht von MOLISCH, daß das Phykophäin ein postmortales Produkt ist, erscheint jetzt allgemein angenommen, auch von WILLSTÄTTER (V, 122), obwohl TSWETT (IV) noch Bedenken hegte bezüglich der Einwände von TSWETT sei auf meine Erwiderung hingewiesen (MOLISCH XIV).

In dem lebenden Chromatophor kommt vielmehr nach MOLISCH ein dem gewöhnlichen Chlorophyll sehr nahestehender Körper, ein „braunes Chlorophyll“ vor, das durch chemische Veränderung in gewöhnliches Chlorophyll übergeführt wird. Wenn ein lebendes Thallusstück von *Fucus*, *Laminaria*, *Dictyota* oder einer anderen Braunalge beim Eintauchen in heißes Wasser, Alkohol oder heiße Luft augenblicklich grün wird, so beruht dies auf der Umwandlung des Phaeophylls in Chlorophyll. Neben dem Phaeophyll kommen in dem Chromatophor der Braunalgen noch Carotin, Xanthophyll und Fukoxanthin vor, welch letzterer Körper identisch mit KYLINS (II) Phykoxanthin und MOLISCHS Leukocyan ist.

### Mikrochemisches.

a) Die oben erwähnte plötzliche Farbumwandlung von Braun in Grün beim raschen Abtöten, z. B. durch heißes Wasser, läßt sich auch in mikroskopischen Schnitten, ja an der einzelnen Zelle beobachten, wenn man sie im Wassertropfen erhitzt. Von einer Entmischung, etwa einer Scheidung eines braunen und eines grünen Farbstoffes ist nichts zu sehen, der Chromatophor wird einfach im Momente des Todes grün.

b) Braunalgen nehmen in 2proz. wässriger Salzsäure eine eigenartige, prachtvoll spangrüne oder blaugrüne Farbe an, die von einem im Chromatophor vorhandenen Körper herrührt, den MOLISCH Leukocyan, KYLIN Phykoxanthin und WILLSTÄTTER Fukoxanthin genannt hat. Dieser Körper ist nach WILLSTÄTTER aschefrei, hat die Formel  $C_{40}H_{64}O_6$  und kristallisiert aus Methylalkohol in braunroten Prismen von monoklinem Habitus und aus Weingeist unter Abschluß von Luft in großen sechsseitigen Tafeln, im durchfallenden Licht von gelber bis roter Farbe je nach der Dicke.

Die Blaugrünfärbung des Thallus in Salzsäure beruht auf der entsprechenden Färbung der Chromatophoren (MOLISCH XIII, 137). Der blaue Körper (Phaeocyan) entsteht auch mit verdünnter Schwefelsäure, Salpetersäure und konzentrierter Essigsäure. Kalilauge und Ammoniak entfärben das Phaeocyan, Salzsäure stellt die blaue Farbe wieder her.

### β) Bei Diatomeen.

Die Kieselalgen besitzen bekanntlich im lebenden Zustande eine braune oder gelbbraune Farbe und gewöhnlich wurde angenommen, daß im Chromatophor neben Chlorophyll noch ein besonderer braungelber Farbstoff, das Diatomin vorhanden sei, und diese beiden Farbstoffe die für Diatomeen charakteristische Mischfarbe geben. Gegen diese Ansicht habe ich mich gewendet und zu beweisen versucht, daß die Kieselalgen ebenso wie die Phaeophyten in ihrem lebenden Chromatophor ein braunes Chlorophyll, das Phaeophyll, enthalten, das beim raschen Absterben der Zelle in gewöhnliches Chlorophyll übergeführt wird (MOLISCH XIII, 139). Neben dem Phaeophyll kommt noch Carotin, vielleicht auch Xanthophyll und außerdem noch Leukocyan vor. Was man früher als Diatomin bezeichnet hat, ist wohl mit Carotin identisch. — Auch die Kieselalgen werden, wenn man sie mit Alkohol, heißem Wasser, Äther, heißer Luft usw. abtötet, grün. Von einer Entmischung eines gelbbraunen und eines grünen Farbstoffes bei dem Farbensumschlag ist im Mikroskop auch nicht eine Spur zu sehen, sondern die Diatomee wird einfach grün. Alle einschlägigen Erfahrungen lassen sich am besten durch meine Annahme erklären, daß ebenso wie bei den Braunalgen im lebenden Chromatophor ein sehr labiles braunes Chlorophyll (Phaeophyll) vorhanden ist, das beim Absterben in gewöhnliches Chlorophyll übergeht. Wie sich die Sache bei den Chrysomonaden, z. B. bei Chromophyton Rosanoffii verhält, deren braungelbe Chromatophoren ebenfalls eine rein grüne Farbe in der Siedehitze annehmen, bleibt zu untersuchen, jedenfalls bedürfen die Angaben von ГАДУКОВ (1) über die Farbstoffe dieser Flagellaten einer Überprüfung.

Die Scheidung von Chlorophyll und gelbem Farbstoff (Carotin) läßt sich auch unterm Mikroskop in folgender Weise durchführen. Eine stecknadelkopfgroße Diatomeenmasse (Reinkultur), wird auf den Objektträger gebracht, mit einem Deckglas bedeckt und so viel absoluten Alkohols vom Rande hinzugefügt, daß der Raum zwischen Deckglas und Objektträger vollständig erfüllt ist. Der Alkohol tötet die Diatomeen und die Farbstoffe gehen in Lösung. Wenn man nun den Deckglasrand nach einiger Zeit betrachtet, so merkt man, daß infolge der Verdampfung des Alkohols zunächst goldgelbe Tropfen



und dann etwas später, dem Deckglasrande näher, grüne Tropfen ausgeschieden werden. Es lassen sich dann zwei parallele Schichtensysteme von Tropfen wahrnehmen, gelbe und grüne. Dazwischen können Mischtropfen von gelbgrüner Farbe vorkommen.

Diatomeen werden genau so wie die Braunalgen in 2proz. Salzsäure blau oder blaugrün wegen der Anwesenheit von Leukocyan (vgl. p. 257).

KOHL (II) ist der Ansicht, daß in den Diatomeen kein besonderes braunes Chlorophyll da ist, sondern daß sie ihre Farbe einem Gemenge von gewöhnlichem Chlorophyll, Carotin und Xanthophyll verdanken. Die Experimente, auf Grund welcher die Existenz des Phaeophylls geleugnet wird, können aber einer objektiven Kritik nicht standhalten, da sie z. T. unrichtig sind und den Farbenumschlag von Braun in Grün nicht plausibel erklären. Man erhält keine Aufklärung darüber, wohin der braungelbe Farbstoff beim Farbenumschlag gelangt. Auch ist KOHL den Beweis dafür schuldig geblieben, daß Carotin und Leukocyan identisch sind, da Carotin zwar mit konzentrierter Salzsäure blau wird, aber niemals mit 2proz. Salzsäure. Wenn daher eine Diatomee mit 2proz. Salzsäure eine blaugrüne Farbe annimmt, so kann dies nicht von Carotin herrühren, es muß daher diese auf einen andern Körper zurückgeführt werden.

#### γ) Bei *Neottia*.

WIESNER (II) hat zuerst gezeigt, daß die im lebenden Zustande braune Orchidee *Neottia nidus avis* bei Behandlung mit Alkohol oder Äther grün wird und daß sich aus ihr Chlorophyll gewinnen läßt. In der Tat verhalten sich die Chromatophoren von *Neottia* wie die von Braunalgen oder Diatomeen, sie zeigen gleichfalls beim raschen Abtöten einen Farbenumschlag von Braun in Grün. Der Umschlag erklärt sich am einfachsten durch die Annahme, daß hier *intra vitam* gewöhnliches Chlorophyll nicht existiert und dieses erst aus einem braunen Atomkomplex, dem Phaeophyll, im Momente des Todes resultiert (MOLISCH XIII, 142). SCHIMPER (I, 119) hat die für meine Auffassung äußerst wichtige Tatsache gefunden, daß namentlich in der Fruchtwand der *Neottia* innerhalb der Chromoplasten braune, nadel-förmige Kristalle vorkommen, die aus reinem Farbstoff bestehen „Nirgendwo zeigt sich eine Spur von Chlorophyll; es ist ganz klar, daß die Grünfärbung, welche die *Neottia* unter dem Einfluß verschiedener Reagentien annimmt, nicht daher rühren kann, daß das Chlorophyll dem braunen Farbstoff mechanisch beigemischt, von demselben aber verdeckt wäre; eine solche Mischung würde nicht kristallisieren. Die Ergrünung beruht vielmehr entweder auf der Spaltung oder einer sonstigen Modifikation des braunen Pigments.“ Erinnert man sich noch meiner auf p. 248 mitgetheilten Chlorophyllreaktion, mit der es sogar gelingt, gewöhnliches Chlorophyll mit gesättigter Kalilauge in braunes und dieses wieder in grünes zu verwandeln, so erscheint wohl meine Ansicht über das Phaeophyll als Ursache der braunen Färbung bei den Braunalgen, Diatomeen und bei *Neottia* in hohem Grade gestützt.

Gegen meine Ansicht von der Existenz eines braunen Chlorophylls (Phaeophylls) haben sich jüngst CZAPK (III) und KYLIN (III,

223) ausgesprochen, ohne aber irgendwelche Gegenbeweise zu bringen und ohne auch den Versuch zu machen, die Blaufärbung der Algen und den Farbumschlag von Braun und Grün im Momente des Todes zu erklären.

Auch WILLSTATTER (V, 119) nimmt an, daß in den Braunalgen gewöhnliches Chlorophyll vorkomme, aber vermischt mit einem braunen Farbstoff, dem schon erwähnten Fikoxanthin. Demgegenüber hat aber WILSENKE (I, 356) mit Recht darauf aufmerksam gemacht, daß nach seinen Untersuchungen mit dem Fluoreszenzmikroskop das Chlorophyll, d. h. die grünen Komponenten der Phaeophyceen, Diatomeen und des Hydrurus sowohl in lebendem als in abgetötetem Zustande vom Chlorophyll der grünen Pflanze verschieden ist, entgegen der Annahme von WILLSTATTER.

#### Peridineen-Farbstoffe.

Insbesondere durch die Untersuchungen von KLEBS (I) und SCHÜTT (I) ist sichergestellt worden, daß die Peridineen Chromatophoren von rötlich-brauner Farbe besitzen, die unter anderem auch dem Chlorophyll sehr nahestehende Farbstoffe führen, und sich hierdurch der Pflanze nähern.

SCHÜTT hat drei Farbstoffe aus marinen Peridineen gewonnen, die er in folgender Weise charakterisiert.

1. Phykopyrrin: braunrot in Wasser löslich; gelb in Alkohol, Äther, Benzol, Schwefelkohlenstoff, Eisessig löslich. Besitzt starkes Absorptionsband im Rot  $\lambda$  65—68 (Chlorophyllband I), Absorptionsmaximum  $\lambda$  60—62 (Chlorophyllband II), Endabsorption in Blau.

2. Peridinin: Nicht löslich in Wasser; sehr leicht löslich in Alkohol mit portweinroter Farbe; leicht löslich in Benzol, Äther, Schwefelkohlenstoff und Eisessig, wenig löslich in Benzin. Charakterisiert durch sehr steiles Anwachsen der Absorption in Grüngelb. Schwaches Band in Orange,  $\lambda$  61. Absorptionsmaximum im Rot zwischen B und C (Band II ist vorhanden).

3. Peridineen-Chlorophyllin: Nicht löslich in Wasser, löslich in Alkohol, Äther, Benzol, Schwefelkohlenstoff, Eisessig, schwer löslich in Benzin. Besitzt starkes Absorptionsband in Rot (Chlorophyllband I). Ist als ein dem Chlorophyll entweder gleicher oder sehr ähnlicher Farbstoff zu betrachten.

Es ist begreiflich, daß bei den großen Schwierigkeiten, mit denen die Beschaffung größerer Mengen reinen Peridineenmaterials verknüpft ist, die Farbstoffe der Peridineen noch ungenügend erforscht sind. Die makro- und mikrochemische Analyse verspricht hier noch reiche Ausbeute.

#### Phykoerythrin.

Der für Rotalgen oder Rhodophyceen charakteristische Farbstoff ist das Phykoerythrin (Florideenrot, Rhodosperrmin). Er findet sich neben Chlorophyll und Carotin in den Chromatophoren und färbt sie, die beiden anderen Farbstoffe vollständig maskierend, in den verschiedensten Nuancen rot.

#### Herstellung einer Phykoerythrinlösung.

Um den roten Farbstoff aus einer Rotalge, z. B. aus *Nitophyllum punctatum* zu gewinnen, wird eine größere Menge der lebenden Alge

mit viel destilliertem Wasser unter mehrmaligem Wechsel desselben abgespült. Dabei beginnt die Alge nach einigen Minuten schön orange-rot zu fluoreszieren, weil die Zellen absterben und der Farbstoff aus den Chromatophoren allmählich aus — und in den Zellinhalt eintritt. Die gewaschene Alge wird dann mit soviel destilliertem Wasser übergossen, daß sie gerade damit bedeckt erscheint und bei etwa 35°C im Finstern aufgestellt. Es ist zweckmäßig, dem Wasser etwas Schwefelkohlenstoff hinzuzufügen, um das Absterben der Alge zu beschleunigen und die Fäulnis zu hemmen. Nach 24 Stunden ist reichlich Farbstoff ausgetreten; er wird durch Filtration von der Algenmasse getrennt. Die unreine Lösung wird mit gerade so viel absolutem Alkohol versetzt, bis

die Fluoreszenz verschwindet. Binnen 24 Stunden fällt alles Phykoerythrin in Form eines ziemlich voluminösen, amorphen Niederschlags heraus. Der abfiltrierte Niederschlag wird nachher in Wasser aufgelöst, mit Alkohol der vollständigen Reinigung wegen abmalt gefüllt und dann mit Wasser wieder aufgenommen. Auf diese Weise erhält man eine vollständig klare, im durchfallenden Licht prachtvoll karminrote, im auffallenden Lichte stark orange fluoreszierende Flüssigkeit. Ein großer Tropfen davon auf dem Objektträger der Verdampfung ausgesetzt, läßt namentlich am Rande Hunderte von roten Phykoerythrin-kristallen zurück (MOLISCH XV)

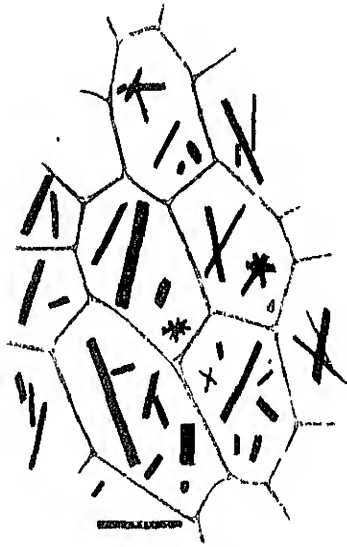


Fig. 87.

Phykoerythrinkristalle im Thallus von *Nitophyllum punctatum*, gewonnen durch Absterbenlassen der Alge im Meerwasser. Vergr. 350.

#### Kristallisation des Phykoerythrins in der Zelle.

Es gelingt auch leicht, in der Zelle das Phykoerythrin zum Auskristallisieren zu bringen. Wird ein kleines lebendes Thallusstück von

*Nitophyllum* in einen Tropfen einer 10proz. Kochsalzlösung gebracht, so läßt sich unterm Mikroskop folgendes beobachten. Schon nach  $\frac{1}{4}$  Stunde treten die Chromatophoren unter Aufquellung und Ab-rundung schärfer hervor, wobei sie im weiteren Verlaufe den roten Farbstoff in den Zellsaft übertreten lassen. In dem Maße als dies geschieht, färbt sich der Zellsaft mehr und mehr karminrot, die Chromatophoren werden aber immer tiefer grün. Nach 1—3 Stunden treten in den Zellen rote Pünktchen auf, bald einzeln, bald zu mehreren bis vielen, die zu verschieden geformten und verschieden großen Kristallen heranwachsen (Fig. 87). Sehr schön gebildete Kristalle findet man auch in Thallusstücken, die im Meerwasser abstarben und dann einige Stunden oder Tage darin liegen blieben. Auch kann man sich reichlich Kristalle verschaffen, wenn man *Nitophyllum* lebend für wenige Stunden in

destilliertes Wasser legt und die rasch absterbenden und prächtig fluoreszierenden Algen in eine 10proz. Lösung von Kochsalz, Magnesiumsulfat oder schwefelsaurem Ammonium bringt (MOLISCH XV, 179).

### Eigenschaften der Phykoerythrinkristalle.

Die Kristalle haben die Form hexagonaler, längerer oder kürzerer Prismen. Die optischen Längsschnitte der horizontal liegenden Kristalle erscheinen demnach als Rechtecke. Bisweilen beobachtet man Abstufungen, die auf sehr flache Pyramiden hinweisen. Die Längsschnitte sind doppelbrechend mit gerader Auslöschung, die Hauptachse entspricht der größeren Elastizitätsachse; der Charakter der Doppelbrechung ist somit negativ. Der hexagonale Charakter ist nicht an allen Kristallen deutlich ausgeprägt, da sie häufig abgerundet, nadelförmig oder schollenartig erscheinen. Die größten Kristalle, die ich beobachtete, waren  $50\ \mu$  lang und  $18\ \mu$  breit.

Die frisch in Kochsalzlösung gewonnenen Kristalle sind in Wasser leicht löslich, doch kann der Grad der Löslichkeit je nach der Vorbehandlung sehr verschieden sein: alte Kristalle oder solche, die lange Zeit mit Alkohol oder Äther behandelt oder gekocht wurden, büßen ihre Löslichkeit in Wasser ein. In Alkohol, Äther, Benzol, Schwefelkohlenstoff, Olivenöl und Terpentinöl sind sie unlöslich. In gesättigter Kalilauge werden sie intensiv blau oder blaugrün und nach längerer Einwirkung malachitgrün, ohne sich zu lösen. Salzsäure stellt die rote Farbe wieder her, aber nur dann, wenn die Kalilauge nicht zu lange gewirkt hat; im entgegengesetzten Falle nehmen die Kristalle in Salzsäure eine tiefblaue Farbe an. Verdünnte Kalilauge entfärbt unter Aufquellen, ebenso Natronlauge, Barytwasser und konzentriertes Ammoniak. Verdünnte Salzsäure (1 Vol. Salzsäure + 3 Vol.  $H_2O$ ), verdünnte Schwefelsäure (1 Vol. Schwefelsäure + 6 Vol.  $H_2O$ ), verdünnte Salpetersäure (1 Vol. Salpetersäure + 6 Vol.  $H_2O$ ) färben sie mehr violett, Salpetersäure allmählich ziegelrot, ohne sie zu lösen. In den genannten konzentrierten Säuren verfließen sie rasch. Die Kristalle sind quellbar, speichern Farbstoffe, Jod und geben die MILLONSche, die Xanthoproteinsäure-, die Biuret- und RASPAILSche Reaktion, die beiden ersteren deutlich, die beiden letzteren schwach.

Auf Grund der Löslichkeitsverhältnisse der Kristalle, namentlich der leichten Veränderlichkeit der Löslichkeit je nach der Vorbehandlung, auf Grund des Unlöslichwerdens nach plotzlicher Erhitzung auf  $100^\circ$  oder nach längerem Kontakt mit absolutem Alkohol, auf Grund der Aussalzbarekeit mit Kochsalz, Ammoniumsulfat und Magnesiumsulfat, des Quellungsvermögens und der erwähnten Eiweißreaktionen folgt, daß die roten Kristalle, d. h. das Phykoerythrin, eiweißartiger Natur ist (MOLISCH XV, 181).

Durch konsequente Anwendung der von mir bei der Gewinnung von kristallisiertem Phykoerythrin verwendeten Aussalzungsmethode hat KYLIN (I) ebenfalls kristallisiertes Phykoerythrin erhalten, meine Ergebnisse bestätigt und unter anderem dahin erweitert, daß sich das Phykoerythrin aus einer Eiweiß- und einer Farbenkomponente zu-

sammensetzt, welch letztere sich beim Kochen oder bei Zusatz einer geeigneten Menge von Säuren oder Alkalien abspaltet. KYLIN (II) konnte zwei Modifikationen des roten Farbstoffes unterscheiden, von denen die eine häufigere sich durch die bekannte orangegelbe Fluoreszenz auszeichnet, während die andere dieser Fluoreszenz ganz oder fast ganz entbehrt.

### Phykocyan.

Bei den Cyanophyceen kommen im Zellinhalt drei Farbstoffe vor. Chlorophyll, Carotin und Phykocyan. Dieses ist an dem Zustandekommen der eigenartigen spangrünen, bräunlichen oder rötlichen Färbung vieler Schizophyten in hohem Grade beteiligt.

Gewinnung einer Phykocyanlösung. Größere Mengen der spangrünen *Oscillaria leptotricha* werden mit destilliertem Wasser rasch gewaschen, in ein kleines Becherglas gebracht, mit wenig destilliertem Wasser versetzt, zur raschen Tötung mit ein paar Tropfen

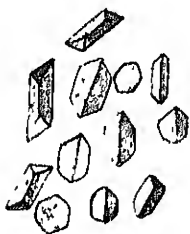


Fig. 88.

Phykocyan-  
kristalle aus *Oscillaria leptotricha*,  
gewonnen durch Aus-  
salzen. Vergr. 350.

Schwefelkohlenstoff durchgeschüttelt und schließlich einen Tag stehen gelassen. Der Farbstoff geht in Lösung und man erhält eine indigblaue Flüssigkeit von prachtvoll karminroter Fluoreszenz. Fügt man zu der filtrierten Lösung Ammoniumsulfat, und zwar weniger als zur beginnenden Aussalzung genügen würde und läßt dann in einer flachen Kristallisierschale im Finstern bei gewöhnlicher Temperatur verdampfen, so fällt das Phykocyan in Form tiefblauer Kristalle heraus, die ebenso wie das Phykoerythrin eiweißartiger Natur sind (MOLISCH XVI) (Fig. 88).

### Eigenschaften der Phykocyan-kristalle

Ihre Größe schwankt zwischen 5 bis 42  $\mu$  (Quellbar, frisch durch Aussalzen gewonnen, lösen sie sich in Wasser, Glycerin, verdünnten Alkalien, wie Kali-, Natriumlauge, ferner in Ammoniak, Barytwasser und Ätzkalklösung. Umgekehrt sind sie unlöslich in absolutem Alkohol, Äther, Benzol, Schwefelkohlenstoff und verdünnten Säuren. In gesättigter Kalilauge färben sie sich spangrün. Kristalle, die längere Zeit mit Alkohol, verdünnten Säuren oder siedendem Wasser behandelt wurden, büßen ihre Löslichkeit für Wasser ein. Sie geben die Eiweißreaktionen (MOLISCH XVI).

Es läßt sich leicht nachweisen (MOLISCH XVII), daß es sicher zum mindesten drei, wahrscheinlich aber noch mehr Phykocyane gibt, die zwar miteinander sehr nahe verwandte Eiweißkörper darstellen, aber durch die Farbe ihrer wässerigen Lösungen, ihre Fluoreszenzfarbe, durch ihre Kristallisationsfähigkeit und ihr spektroskopisches Verhalten sich leicht unterscheiden. So geben alle untersuchten spangrünen Cyanophyceen eine Phykocyanlösung, die im durchfallenden Lichte eine blaue Farbe mit einem Stich ins Grün aufweist, dagegen im auffallenden Lichte prachtvoll dunkelkarminrot fluoresziert. Ich nenne diesen Körper blaues Phykocyan.

Die anders gefärbten Cyanophyceen von brauner, grünlich-brauner, olivgrüner oder graubrauner Farbe geben violette Phykocyanlösungen

mit venezianischroter, fast ockerartiger oder karminroter Fluoreszenz. Dieses Phykocyan, von dem ich zwei Modifikationen unterscheiden konnte, nannte ich violettes Phykocyan.

Der Farbenunterschied zwischen blauem und violetterm Phykocyan ist gewöhnlich in die Augen springend, doch finden sich auch Übergänge vor wie das blauviolette Phykocyan von *Oscillaria limosa*. Dieser äußeren Verschiedenheit entspricht auch eine deutliche Verschiedenheit der Spektra. So zeigt das blaue Phykocyan nur zwei, das violette hingegen drei (*Oscillaria limosa*) oder vier (*Scytonema Hoffmanni*) Bänder im Spektrum.

Auch KYLIN (II) unterscheidet mehrere Phykocyanmodifikationen: ein blaugrünes, blaues und ein blauvioletterm Phykocyan. Er hat auch das Verdienst, bei zahlreichen Rhodophyten neben Phykoerythrin auch Phykocyan nachgewiesen zu haben, so bei *Ceramium rubrum*, *Bangia fuscopurpurea*, *Batrachospermum*-Arten, *Chondrus crispus* (L.) Lyngb., *Dumontia filiformis* Grev., *Lemanea fluviatilis* Ag., *Porphyra hiemalis* Kylin, P., *umbilicalis* und anderen (II und IV, 533).

Mit Rücksicht auf die unsichere systematische Stellung der Alge *Porphyridium cruentum* Naeg. sei erwähnt, daß ich in dieser Alge zwar Phykoerythrin, aber kein Phykocyan nachweisen konnte (MOLISCH XVII, 808). Sie ist die einzige bisher bekannte Luftalge, die Phykoerythrin enthält und dürfte mit den Bangiales verwandt sein.

Mikrochemisches. Von der Verschiedenheit der Phykocyane kann man sich auch auf mikrochemischem Wege überzeugen. Wenn man einen Rasen einer typisch spangrünen Nostocacee oder Oscillarinee, etwa *Anabaena inaequalis* Bornet oder *Oscillaria leptotricha* Kg. in eine mit Eisessig gefüllte Dose einlegt, so nimmt die Alge nach etwa  $\frac{1}{2}$  Stunde eine schön blaue Farbe an. Die Reaktion ist so zu erklären: Der Eisessig verwandelt das in den Zellen vorhandene Chlorophyll in braunes oder braungrünes Chlorophyllan und löst es samt dem vorhandenen Carotin aus den Zellen so vollständig heraus, daß schließlich von den ursprünglich vorhandenen drei Farbstoffen nurmehr das durch die Essigsäure gefällte und hierdurch unlöslich gewordene Phykocyan in den Fäden zurückbleibt. Daher die blaue Farbe des Rasens. Verwendet man jedoch anstatt einer spangrünen Oscillarie eine braune, grünlich-braune, olivengrüne oder graubraune Oscillarie, z. B. *O. Frölichii* Kg. oder *O. sancta* Gom., so gehen dieselben Prozesse vor sich, allein das Räschen nimmt schließlich eine tiefviolette Färbung an. — Macht man diese Versuche unterm Mikroskop, so ist es zweckmäßig, die Alge zunächst durch Abtupfen mit Filtrierpapier von anhängendem Wasser zu befreien, mit einem großen Tropfen Eisessig zu versehen und schließlich mit einem Deckglas zu bedecken. Die Fäden werden zuerst braun, dann blau oder violett, je nachdem man eine spangrüne oder eine braune Oscillarie zum Versuche genommen hat. Mit dem Verdampfen des Eisessigs kristallisiert dann nicht selten in der Umgebung des Deckglasrandes das Chlorophyllan in den charakteristischen locken- oder peitschenartigen Kristallen aus und zwischen den Algenfäden treten gewöhnlich auch noch die orangefarbenen Schuppen und Plättchen des Carotins aus. Besonders wenn die Fäden in Haufen übereinander liegen, tritt die Phykocyanfarbe deutlich hervor, doch ist sie auch an einzelnen Fäden zu beobachten. Bei

manchen Cyanophyceen, z. B. bei gewissen *Gloeocapsa*-Arten, scheint allerdings so wenig Phykocyan vorhanden zu sein, daß man von einer entsprechenden Färbung fast nichts sieht.

## 6. Anthocyane und andere Farbstoffe.

### a) Anthocyan.

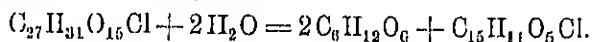
Dieser namentlich im Bereiche der Phanerogamen weit verbreitete Farbstoff (als Gruppenbegriff gefaßt) kann in den verschiedensten Organen auftreten: in der Blüte, Frucht, im Blatt, Stamm und sogar in der Wurzel (MOLISCH XIX). Die blauen, violetten und roten Blüten verdanken zumeist dem Anthocyan allein oder wenigstens zum Teil ihre Farbe. Gewöhnlich faßt man mit dem Worte Anthocyan jene roten, violetten oder blauen Farbstoffe zusammen, die gegenüber Säuren und Alkalien ein bestimmtes, gleich zu schilderndes Verhalten zeigen und im Wasser, wasserhaltigen Alkohol löslich, im Äther aber unlöslich sind.

**Eigenschaften.** Bereitet man eine wässrige Anthocyanlösung aus Rotkraut, die bei gewöhnlicher Zimmertemperatur eine violette Farbe hat und versetzt man diese mit einer verdünnten Säure, so färbt sie sich rot, bei Zusatz von einer sehr geringen Menge eines Alkali blau oder grün und bei Zusatz von mehr Alkali grün bis gelb. Die grüne Farbe wird von WIESNER (III, 392) und WILLSTÄTTER als eine Mischfarbe von Blau und Gelb gedeutet. Durch Alkalien sich gelb färbende Substanzen sind tatsächlich sehr verbreitet, z. B. Flavonfarbstoffe und die farblose Form des Anthocyans; sie können die Mischfarbe mit dem Blau des Anthocyans hervorrufen. Je nach der sauren oder neutralen Reaktion des anthocyanhaltigen Zellsaftes kann daher die betreffende Zelle oder das ganze Gewebe rot, violett oder blauviolett erscheinen und es kann keinem Zweifel unterliegen, daß die zahlreichen Farbnuancen anthocyanführender Organe unter anderem auf diesem Umstand beruhen. Durch die meisterhaften Untersuchungen WILLSTÄTTERS (VI) und seiner Schüler wurde die noch im Argen liegende Chemie der Anthocyane in hohem Grade gefördert. Indem ich die Eigenschaften dieser Farbstoffe anführe, folge ich WILLSTÄTTER (VII).

Die Anthocyane haben sich als stickstofffreie, basische Farbstoffe von phenolischem Charakter erwiesen. Sie bilden mit Mineralsäuren und mit organischen Säuren sehr gut kristallisierende Salze, Oxoniumsalze, deren vierwertiger Sauerstoff in ihnen chinoid gebunden angenommen wird, um die stark basischen Eigenschaften zu erklären. Die Verbindungen der Anthocyane mit Säuren sind rot, ihre neutrale Form ist violett und ihre Alkalisalze sind blau.

In den neutralen und besonders in den Alkalisalzlösungen entfärben sich häufig die Anthocyane. Diese Erscheinung beruht aber nicht, wie man vielfach vermutet hat, auf einer Reduktion, sondern auf einer Isomerisation, denn die Farbe kehrt beim Ansäuern wieder. Die Anthocyane haben sich, wie bereits früher auf das bestimmteste vermutet wurde (MOLISCH XVIII), als stickstofffreie Glykoside erwiesen. Sie werden beim kurzen Erhitzen mit 20proz. Salzsäure vollständig in Zucker und in die eigentlichen Farbstoffkomponenten, die von WILLSTÄTTER als Anthocyanidine bezeichnet werden, gespalten.

Der in den Blumenblättern der Scharlachpelargonie vorhandene Farbstoff, das Pelargonin, ist mit einer Pflanzensäure verbunden und nach WILLSTÄTTER ein Diglukosid von der Zusammensetzung  $C_{27}H_{30}O_{15}$ . Bei kurzem Erwärmen mit Salzsäure zerfällt es in Glukose und in die Farbstoffkomponente Pelargonidin:



Durch die Feststellung der Glykosidnatur der Anthocyane wird uns nun auch die Tatsache verständlich, daß die Anthocyanbildung durch künstliche Zufuhr von Zucker wesentlich gesteigert wird (OVERTON I). Die Frage, ob es nur ein Anthocyan oder mehrere gibt, ist von verschiedenen Forschern [WIGAND, A. HANSEN (I), J. N. C. MÜLLER, WIESNER (III), NÄGELI, SCHWENDENER, WEIGERT (I), MOLLSCH (XVIII), OVERTON (I), GRAFE (I, II u. a.) in verschiedener Weise beantwortet worden.

WEIGERT (I), dessen einschlägige Angaben ich im wesentlichen bestätigen kann, unterscheidet unter den Anthocyanen zwei gut charakterisierte Gruppen, repräsentiert durch das Weinrot (aus Trauben oder Blättern) und das

Rubenrot. Errechnet zur Weinrotgruppe (*Vitis*, *Ampelopsis quinquefolia*, *Rhus typhina*, *Cornus sanguinea*) alle jene roten Farbstoffe, die mit basischem Bleiacetat blaugraue oder blaugrüne Niederschläge geben, die ERDMANNSCHE Reaktion liefern, mit konzentrierter Salzsäure in der Kälte behandelt, sich heller rot färben und ausgefällt werden und beim Zusatz von Alkalien einen Farbumschlag ins Grüne zeigen.

Zur Rubenrotgruppe (rote Rübe, *Iresine Landeni*, *Achyranthes Vesicifolia*, *Amarantus*, *Atriplex hortensis* (atrosanguinea), *Phytolacca decandra*) stellt der genannte Autor alle jene Anthocyane, die mit basischem Bleiacetat rote Niederschläge geben, die ERDMANNSCHE Reaktion nicht liefern, sich mit konzentrierter Salzsäure bei gewöhnlicher Temperatur und mit Ammoniak dunkelviolett, mit anderen Basen aber (Kali, Natrium, Kalk, Baryt) gelb färben. Bezeichnend für diese Gruppe ist, daß sie in schwach alkalischer Lösung, in welcher Lackmus schon nach Blau umschlägt, ihre rote Farbe noch behalten.

In Unkenntnis der Arbeit WEIGERTS spricht OVERTON (I), gestützt auf gelegentliche Beobachtungen, seine Überzeugung dahin aus, „daß z. B. der rote Farbstoff der *Amarantus*-Arten, der wahrscheinlich mit dem roten Pigment anderer

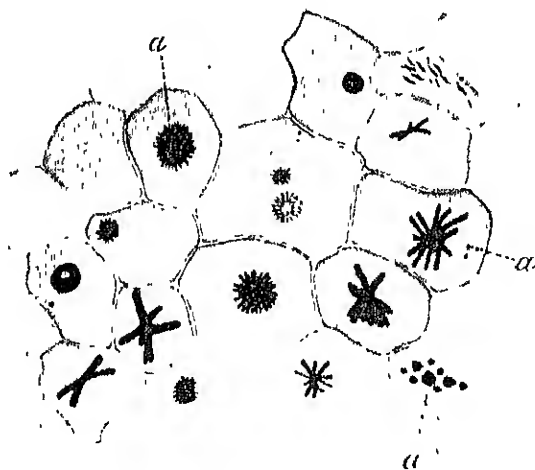


Fig. 80

Anthocyanokristalle vom Rotkraut *Brassica oleracea* (capitata). Mesophyll knapp unter der Oberhaut des Blattes. Die Zellen enthalten Körnchen, Prismen, Nadeln und Sphärite a. Vergr. 160



Amarantaceen und mit denjenigen der roten Varietät der Zuckerrübe identisch ist, mehrfach in seinem Verhalten von dem Farbstoff der meisten roten Säfte abweicht. Ebenso dürfte z. B. das rote Pigment der Kronblätter von *Papaver Rhoeas* und anderer *Papaver*-arten mit ähnlich gefärbten Blüten von dem Farbstoff der meisten anderen Pflanzen sicher verschieden sein. Ich glaube, daß, wenn man die Zahl der verschiedenen Farbstoffe, welche bei der Rot- und Blaufärbung des Zellsaftes der verschiedenen Blüten, Blätter und Früchte beteiligt sind, auf etwa ein Dutzend schätzt, man diese Zahl eher zu niedrig als zu hoch taxiert.“



Fig. 90  
Anthocyaninkristalle von *Begonia maculata* Radd. Epidermis  
oberhalb eines Blattnervs.  
Vergr. 100

Ich möchte noch hinzufügen, daß der rote Farbstoff von *Dianthus Caryophyllus* (gefüllte Gartenhybriden) Eigenschaften aufweist, die auf keine der beiden Weizenrassen (Gruppen) vollkommen passen. Der Nelkenfarbstoff ist fast unlöslich in Alkohol, d. h. rote Blüten bleiben in Alkohol rot, an den Alkohol wird kein oder nur sehr wenig Farbstoff abgegeben. Mit wenig Ammoniak oder Kalilauge verändert sich nur wenig die rote Farbe, jedenfalls wird sie nicht blau oder grün. Hierin stimmt der Farbstoff mit der Rübenrotgruppe ziemlich überein; aber während dieser mit basischem Bleiacetat einen roten Niederschlag gibt, entsteht mit dem Nelkenfarbstoff ein grüner

Mit anderen Worten: Der Begriff Anthocyan stellt kein chemisches Individuum, sondern eine Gruppe von mehreren verschiedenen, wahrscheinlich verwandten Verbindungen dar.

WILLSTÄTTER hat die Einteilung WILLGERS abgelehnt, indem er geltend macht, daß bei einer so schiefen Abgrenzung sehr verschiedene Pigmente zu einer Gruppe zusammengefaßt werden. Obwohl er die Schwierigkeit einer natürlichen Gruppierung nicht verkennt, versucht er unter den leicht zugänglichen Anthocyanen folgende zu unterscheiden

1. Anthocyan von Kornblume, Rose, *Lathyrus*. In saurer Lösung rot, mit Soda blau, von Bleiacetat blau gefärbt; der

Farbstoff isomerisiert sich leicht zu einer farblosen Modifikation.

2. Anthocyan der Weintraube, Heidelbeere, des Feldritterspornes. In saurer Lösung rot, mit Soda blau, Bleisalz blau, der Farbstoff entfärbt sich weniger leicht.

3. Anthocyan des Radieschens. In saurer Lösung gelblich rot, mit Soda blau, mit Bleiacetat rote Fällung.

4. Anthocyan von Mohn, von *Pelargonium*. In saurer Lösung gelbrot (*Pelargonie*) und blaurot (Mohn); mit Soda violett; durch Isomerisation entfärbt.

5. Anthocyane der Nelke, der Aster. In saurerer Lösung rot, mit Soda in dicker Schicht rot, in dünner blaugrün (Nelke) oder rotviolett bis rotbraun (Aster).

6. Anthocyane der roten Rübe (sowie der Melde). In saurerer Lösung violett, mit Soda rot, Bleisalz rot.

#### Nachweis.

Das eigentümliche Verhalten des Anthocyans zu Säuren und Alkalien kann sehr gut auch mikrochemisch verwertet werden. Doch ist zu beachten, daß behufs Hervorrufung der Blau- oder Grünfärbung ein Überschuß von Alkali vermieden werden soll, weil sonst nur eine gelbe oder gelbbraune Mißfärbung zustande kommt. Gute Dienste leistet dampfförmiges Ammoniak. Man halte die Schnitte ganz kurze Zeit über den Hals einer Ammoniakflasche. Das Ammoniak dringt sehr rasch in die Zelle ein und ruft verschiedene Farbennuancen zwischen blau und grün hervor. Die Grünfärbung, die Vergißmeinnichtblüten im Tabakrauch annehmen, ist gleichfalls eine, wahrscheinlich durch kohlen-saures Ammon und vielleicht noch andere alkalisch reagierende Substanzen bewirkte Anthocyanreaktion. — Die Fällung des Anthocyans durch Bleiacetat kann ebenfalls mikrochemisch verwertet werden.

Amorphes und kristallisiertes Anthocyan. In der Regel kommt das Anthocyan im Zellsaft gelöst vor. Es sind jedoch durch MOLISCH (XVIII) zahlreiche Fälle bekannt geworden, wo Anthocyan in fester Form, amorph oder kristallisiert auftritt. Es ist dies gewöhnlich bei sehr intensiv gefärbten Pflanzenteilen der Fall; der Zellsaft erscheint mit dem Farbstoff übersättigt und fällt dann in kolloidalen Tropfen, Kugeln oder in fester Form heraus. Namentlich da, wo auf der Blumenkrone dunkle Flecke, Makeln, dunkle Adern auftreten, kann man mit Wahrscheinlichkeit auf konzentrierte Anthocyan-tropfen oder auf festes Anthocyan rechnen. Einige Beispiele

a) Rotkraut. In der Epidermis und den knapp darunter liegenden Mesophyllzellen der roten Blätter findet man (bei niedriger Temperatur) das Anthocyan gelöst, in Tropfen- oder Kristallformen Nadeln, Prismen, Sternen und Kristallsand (Fig. 89).

b) *Begonia maculata* Radd. Der Farbstoff kommt hier nicht selten, besonders in den über die Gefäßbündel streichenden, mehr länglich gestalteten Oberhautzellen der Blattunterseite in tiefroten Kristallen vor: Vierseitige Pyramiden, auch kombiniert mit dem Prisma, daneben verwachsene Kristalle und kleine Drusen (Fig. 90).

c) *Pelargonium zonale* W. (Scharlachpelargonie). Die brennend roten Blumenblätter enthalten häufig am Rande neben gelöstem Farbstoff auch runde, karminrote bis schwarzviolette Anthocyanballen, nicht selten mit kristallinischer Struktur. Ähnliches findet sich häufig in den tiefrot gefärbten Blumenblättern gefüllter Rosen und den dunkelroten Blüten von *Anthriscum majus*.

d) Kristallisiertes Anthocyan wurde auch noch beobachtet in den gefüllten Blüten von *Dianthus Caryophyllus*, in den schwarzblauen Beeren einer *Vitis*-Art, in dem violetten Fleck der Blumenblätter von *Anagallis arvensis* L. var. *ciliata*, in den Blüten von *Aquilegia atrata* hort., *Lathyrus heterophyllus* L., *Cytisus Laburnum*, *Medicago sativa*,

Hedysarum coronarium, Ononis Natrix L., Nemophila sp., Baptisia australis, Erodium Manescari Coss u. a. (MOLISCH XVIII).

e) Eigenartige Farbstoffausscheidungen zeigen die Blüten verschiedener Delphinium-Arten. Sie wurden von A. WEISS entdeckt, von ZIMMERMANN (I) für Delphinium formosum beschrieben und von MOLISCH (XVIII, 152) bei *D. elatum* untersucht. Die azurblauen Kelchblätter enthalten im Zellinhalte sehr merkwürdige, einem feinen Mycel gleichende Ausscheidungen von tiefblauer oder rotvioletter Farbe (Fig. 91).

Die Kristallisation des Anthocyans außerhalb der Zelle (MOLISCH XVIII, 156). Der Umstand, daß das Anthocyan manchmal schon in der Zelle zu kristallisieren vermag, legte den Gedanken nahe, daß dies auch außerhalb der Zelle gelingen dürfte. Versuche mit Rotkraut, Wein-, Rüben- und Nelkenfarbstoff führten zu negativen, Versuche mit *Pelargonium zonale*, der Georgine, Rosa, Mahonia und Anemone fulgens führten zu positiven Resultaten.

#### *Pelargonium zonale*.

a) Wird ein scharlachrotes Blumenblatt in destilliertem Wasser eingelegt, mit einem Deckglas bedeckt, gequetscht, um den Farbstoffaustritt zu erleichtern, so bildet sich nach und nach eine rote Anthocyanlösung. Beim allmählichen Verdampfen wird sie konzentrierter und nach 12 bis 24 Stunden treten in dem letzten Reste der Lösung unter dem Deckglasrande intensiv rote Nadelchen, sternartige Nadelaggregate, Knollen und endlich Sphärite genau von der Form und Farbe wie in der lebenden Zelle auf. Die Verdampfung muß sehr langsam vor sich gehen. — Bereitet man sich eine konzentrierte wässrige Anthocyanlösung und läßt einen Tropfen auf dem Objektträger verdampfen, so erhält man einen



Fig. 91.

*Delphinium elatum*.  
Epithel der azurblauen Kelchblätter mit fadenknäuelähnlichem Anthocyan.  
Vergr. 130.

unkristallisierten Rückstand. Fügt man jedoch einen Wassertropfen hinzu, so treten unter dem Deckglas viele schöne Sphärite von Anthocyan auf.

b) Noch zweckmäßiger ist es, den Farbstoff aus Essigsäure (10proz. Salzsäure oder Essigäther) abzuscheiden. Ein etwa 1 cm<sup>2</sup> großes Stück des Blumenblattes wird auf dem Objektträger in Essigsäure eingebettet, mit einem Deckglas bedeckt und unter eine Glasglocke gesetzt, um die Verdampfung zu verlangsamen. Die Essigsäure tötet die Zellen, nimmt den Farbstoff auf und läßt ihn beim Verdampfen namentlich unter dem Deckglasrande in Form von feinen, tief karminroten Nadelchen, Pinseln, Doppelpinseln, Garben, Sternen, Drusen oder Sphäriten ausfallen (Fig. 92).

Die Kristalle zeigen die Reaktionen der in den Blumenblättern vorhandenen Anthocyanballen. Mit verdünntem Ammoniak oder verdünnter Kalilauge lösen sie sich mit blauvioletter, aber nicht mit grüner Farbe, in Wasser lösen sie sich nicht.

*Dahlia variabilis.*

Ich experimentierte mit einer Hybride mit tief dunkelpurpurnen Korollblättern. Werden größere Stücke davon auf dem Objektträger mit einem Tropfen 20proz. alkoholischer Salzsäure behandelt, rasch mit einem Deckglas bedeckt und nun sich selbst überlassen, so findet man



Fig. 92.

Anthocyankristalle, gewonnen aus einer Lösung des Farbstoffes von *Polargonium zonale* in Essigsäure. Vergr. 380.

tagsdarauf, wenn der größte Teil der Flüssigkeit verdampft ist, zum Teil auf dem Gewebe, zum Teil am Deckglasrande mehr oder minder große, im allgemeinen verhältnismäßig sehr große schwarzrote Sphärite des roten Farbstoffs (Fig. 93). Die Sphärite erreichen oft die bedeutende Größe von 120  $\mu$ , zeigen mitunter eine Schichtung, einen dunkleren Kern und eine dunklere Hülle, falls die Färbung nicht durchwegs gleichmäßig schwarzrot ist. Mit verdünnter Soda oder Ammoniak werden sie dunkel violett.

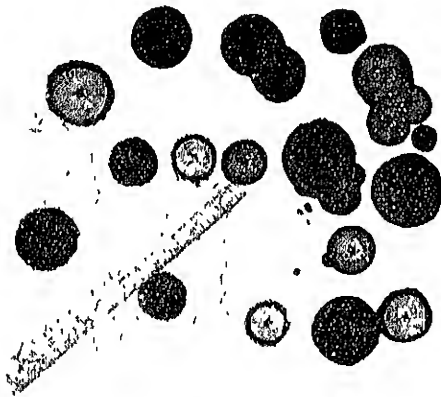


Fig. 93.

Anthocyansphärite, erhalten durch Behandeln der schwarzpurpurnen Blumenblätter der *Georgine* mit 20proz. Salzsäure. Vergr. 120

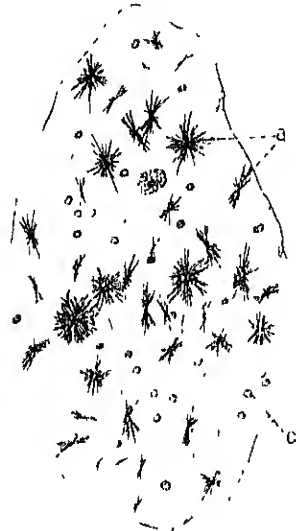


Fig. 91

Anthocyankristalle  $\alpha$  in einer Zelle des Fruchtfleisches von *Mahonia aquifolium*, erhalten mit Pikrinsäure  $\gamma$  Chloroplasten Vergr. 180.

*Mahonia aquifolium.*

Die Beeren dieses Strauches sind bekanntlich von tief blauschwarzer Farbe. Der Farbstoff findet sich sowohl in der Haut wie in dem Fruchtfleisch. Ein stärkerer Fingerdruck auf die Beeren läßt sofort einen intensiv roten Saft austreten, in dem ziemlich viele rote, lebende

Zellen schwimmen. Behandelt man einen solchen Tropfen am Objektträger mit konzentrierter wässriger Pikrinsäure und bedeckt mit einem Deckglas, so kristallisiert nach mehreren bis 24 Stunden der Farbstoff wahrscheinlich als Pikrat in kurzen, feinen, intensiv roten Nadelchen oder Nadelsternen heraus, die sowohl im Tropfensaft als auch in den darin suspendierten anthocyänführenden Zellen entstehen können (Fig. 94). Hier haben wir einen Fall, in dem der Farbstoff direkt in der Zelle zur Kristallisation gebracht werden kann.

Die eben geschilderten mikrochemischen Versuche von MOLISEN, den Farbstoff innerhalb und außerhalb der Pflanze zur Kristallisation zu bringen, wiesen der Makrochemie den richtigen Weg, auf dem es dann WILLSTÄTTER gelang, zahlreiche Anthocyane in reiner kristallisierter Form und ausreichender Menge zu gewinnen und ihre Chemie in so ausgezeichnete Weise aufzuhellen.

Ein eigentümliches Vorkommen von Anthocyan hat v. SPIESS (1) beschrieben. In bestimmten Varietäten von Mais<sup>1)</sup> zeigen die Zellen der Kleberschichte eine schwachblau gefärbte Grundsubstanz in der die zahlreich vorhandenen Aleuronkörner tief dunkelblau tingiert erscheinen. Der Farbstoff verhält sich Säuren und Alkalien gegenüber wie Anthocyan. Es wäre wünschenswert, zu untersuchen, ob nicht in der jungen Zelle der Farbstoff vielleicht doch ursprünglich im Zellsaft gelöst vorkommt und erst später von den Aleuronkörnern aufgenommen wird.

Sehr selten liegt das Anthocyan unter normalen Verhältnissen nicht im Zellsaft, sondern in der Membran. Manche Sphagnum-Arten werden bei starker Besonnung namentlich an den Spitzen intensiv rot. Die Ursache davon ist ein roter Farbstoff, der in den Membranen, hauptsächlich der schmalen Chlorophyllzellen der Blätter, seinen Sitz hat, sich mit Säuren rot, mit Spuren von Alkalien blau violett färbt, sich also wie Anthocyan verhält.

Die rote Farbe der Samenschale von *Abrus precatorius* soll nach NAGEL und SCHWENDENER (1, 501) auch von einem in der Membran eingelagerten Anthocyan herühren.

Sitz. Das Anthocyan kommt gewöhnlich in der Epidermis oder im Parenchym oder in beiden vor und bedingt teils für sich, teils in Verbindung mit grünen, gelben und weißen Gewebepartien in Laubblättern, die bunte Mannigfaltigkeit roter, violetter, brauner und anderer Farbentöne (HASSACK (1), KARZEL (1), BUSCALIONI und POLLACCI (1)).

#### b) Anthophaein.

##### Vorkommen.

Ein eigenartiger, brauner Blütenfarbstoff, von MOEBIUS (1) genauer beschrieben und Anthophaein genannt, wurde bisher gefunden in den schwarzen Flecken der Blüte von *Vicia Faba* L., in den braunen petaloiden Kelchblättern von *Delphinium triste*, in den Nektarien von *Delphinium elatum* und D. *Douglasii* und in der braunen Blüte der Orchidee *Coeloglyne Massangeana* Reichb. fil. Ferner hat SCHLOCKOW (1) es nachgewiesen in der Orchideenunterfamilie der *Coelogyninae*.

<sup>1)</sup> Ich fand auch eine Maisvarietät mit roten Früchten. Der Farbstoff erscheint im Mikroskop gelbbraunlich, findet sich im Zellinhalt des Perikarps und zeigt weder die Reaktion des Carotins noch des Anthocyans. Die Aleuronkörner der Kleberschichte sind hier ganz farblos.

Alle hierher gehörigen Gattungen besitzen es, mit Ausnahme von *Pholidota imbricata*. — Wohl zu unterscheiden von Anthophaein ist die braune Farbe vieler anderer Blüten, die durch Kombination von Anthocyan mit gelben Chromatophoren zustande kommt.

**Eigenschaften.** Das Anthophaein gibt zwar keine bezeichnenden Reaktionen, ist aber doch als ein eigenartiger, von Anthocyan leicht zu unterscheidender Farbstoff zu erkennen. Er ist in kochendem Wasser löslich, in Alkohol, Äther und Benzin unlöslich. Aus der wässrigen Lösung kann er durch Alkohol gefällt und durch Kochsalz, schwefelsaure Magnesia, Calciumchlorid ausgesalzen werden. Mit Ammoniak tritt keine wesentliche Veränderung ein, durch Säuren wird die Färbung etwas dunkler, durch Essigsäure mehr umbrabraun. Das Anthophaein ist im Zellsaft gelöst und färbt ihn braun.

### c) Anthochlor.

In verschiedenen Blüten und Früchten kommt ein gelber Farbstoff im Zellsaft gelöst vor, der verschieden benannt wurde und von PRANTL (I) den Namen Anthochlor und von TSCHIRCH (III) den Namen Anthoxanthin erhielt. Er findet sich in den gelben Blüten von *Primula elatior* und *P. acaulis*, *Acacia falcata*, *Linaria vulgaris*, *L. tristis*, *Lotus corniculatus*, *Centaurea pulcherrima*, *Cephalaria tartarica*, *Crocus maasiacus*. Nach COURCHET (I) in den Blüten von *Mesembryanthemum aureum*, *Verbascum*, *Anthriscum*, nach DENNER (I) in den gelben Blüten von *Mirabilis longifolia*, *Calceolaria punatifida*, *Carthamus tructatus*, *Limonchalis Humboldtii* und anderen und nach HANSEN (I, 7) auch in den Zellen der Zitronenschale.

Die Löslichkeitsverhältnisse gleichen im allgemeinen denen des Anthocyans. Die Anthochlore lösen sich in Wasser, in Säuren und Alkalien, häufig mit roter Farbe. Sie sind ferner gut löslich in Äthylalkohol und Essigsäure mit intensiv gelber Farbe, gut löslich in Methylalkohol, hingegen in den meisten organischen Lösungsmitteln wie Äther, Petroläther, Benzol, Chloroform, Schwefelkohlenstoff, Aceton und Anilin unlöslich.

COURCHET (I, 361) hat ihn aus den Blüten von *Lotus corniculatus* in Form ziemlich dicker, gerader Nadeln erhalten. Bezeichnend ist, daß er mit konzentrierter Schwefelsäure sich nicht blau färbt, im Gegensatz zu Carotin. Im einzelnen weichen die im Zellsaft gelösten gelben Farbstoffe voneinander ab, so daß z. B. PRANTL den Farbstoff von *Papaver alpinum*, *P. nudicaule* und *Dahlia variabilis* nicht zu Anthochlor stellt. Das Anthochlor von *Lotus corniculatus* wird nach COURCHET mit konzentrierter Schwefelsäure blutrot, das der Zitrone nach HANSEN braun. Die gelben, im Zellsaft gelösten Farbstoffe repräsentieren wohl kein chemisches Individuum, sondern wahrscheinlich eine Gruppe mehr oder minder verwandter Substanzen. Ich halte es daher aus praktischen Gründen für passend, vorläufig alle im Zellsaft gelösten gelben Farbstoffe, die sich mit Schwefelsäure nicht blau färben, unter dem Namen Anthochlor zusammenzufassen, bis die Makroanalyse uns die Handhabe zu besserer Unterscheidung der einzelnen Anthochlore geben wird.

Die eingehendsten Untersuchungen über die Verbreitung und die Chemie des Anthochlors verdanken wir KLEIN (I). Er hat die gelben Blüten von etwa 300 Arten geprüft. 60 enthielten Anthochlor und die übrigen meist Carotin. Charakteristisch ist das Verhalten des Anthochlors gegen konzentrierte Mineralsäuren, besonders gegen Schwefelsäure und ferner gegen Alkalien. Danach kann man nach KLEIN (I) drei Gruppen unterscheiden.

a) Eine Gruppe, die mit den genannten Reagentien rote Farbtöne gibt, ein Umstand, der vielleicht auf eine chinoide Bindung im Molekül hinweist. So wurde mit der gelben Dahlie ein rotes, in Wasser zersetzliches Kristallisationsprodukt erhalten. Intensiv rote Farbe geben auch Anthirrhinum, Linaria, Acacia und Coreopsis.

b) Eine zweite Gruppe liefert dunkelgelbe bis orangegelbe Farben (Papaver).

c) Eine dritte Gruppe gibt mit Säuren grüne bis braune und mit Alkalien tief-gelbe Kristallisationsprodukte (Verbascum).

Das Anthochlor findet sich stets in der Epidermis der Blütenblätter, jedoch niemals im Mesophyll vor. Gesellt sich zum Anthochlor auch Carotin, so erscheint dieses im Grundgewebe, in der Epidermis aber kommen beide Farbstoffe, und zwar in ein und derselben Zelle vor. Durch KLEIN wurde es sehr wahrscheinlich gemacht, daß man es in den Anthochloren mit Glykosiden und zwar mit Flavonabkömmlingen zu tun hat, die zu den Anthocyanen nahe Beziehungen haben dürften (Reduktion zu roten Verbindungen mit nascerendem Wasserstoff).

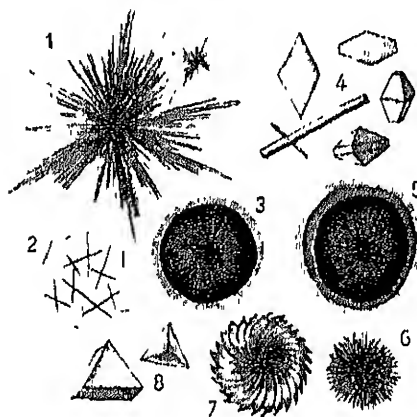


Fig. 95.

Anthochlorkristalle. 1, 2, 3, 6 von *Dahlia variabilis*, 1 aus konz. Zuckerlösung-Alkohol, 2 und 6 aus Äthylalkohol, 3 aus Aceton. 4 von *Linaria vulgaris* aus Amylalkohol. 5 von *Linaria vulgaris* aus Bleiacetat. 7 von *Verbascum thapsus* aus 40proz. Kalilauge. 8 von *Verbascum thapsus* aus Alkohol-Ammoniak.

Mikrochemisch konnte KLEIN Anthochlore kristallisiert direkt unter dem Mikroskope in folgender Weise erhalten (Fig. 95):

Papaver. Wird die schwefelgelbe Partie am Grunde der Korollblätter von *P. Kerneri* und *P. aurantiacum* mit Alkohol und Essigsäure oder angesauertem Wasser behandelt, so kristallisiert der Farbstoff in vielen Zellen sofort in Form gelblicher oder gelbgrüner, wurstförmiger Gebilde oder Stäbchen.

Dahlia. Wenn ein Blütenblattstück der gelben *Georgine* in einen Tropfen Zuckerlösung eingelegt wird, so tritt Plasmolyse ein und nun erscheinen in Folge des Wasserentzuges in vielen Zellen dunkelgelbe Kugeln oder Nadelsphärite, die sich mit Kalilauge und Schwefelsäure rot färben.

*Linaria vulgaris*. Die Blüten zeigen nach längerer Einwirkung von Essigsäure Bündel von derben gelben Spießen im Gewebe.

Nach KLEIN (II) findet sich Anthochlor auch in Früchten (Citrus-Schale), in Blättern und Stengeln (*Dahlia*, *Antirrhinum*, *Roseda*) im herbstlich gelbgefärbten und vergilbten Laub vor. Derselbe Forscher konnte auch zeigen, daß das Helichrysin (*Helichrysum*) und Saflorgelb (*Carthamus tinctorius*) zu den Anthochloren gehört und daß beide Farbstoffe zur Kristallisation gebracht werden können.

Schon NÄGELI und SCHWENDENER (I, 505) haben auf gewisse Farbstoffe hingewiesen, die nur in der Membran auftreten, und als Beispiele führen sie unter anderen diejenigen an, die bei den Chroococcaceen und Nostocaceen vorkommen. Sie erscheinen in den verschiedensten Nuancen zwischen Gelb und Blau, kommen aber zumeist einerseits in braungelben, andererseits in roten und blauvioletten Tönen vor. Hierher gehören das Gloeocapsin und Sceptonemin, zwei Farbstoffe, die bis heute höchst mangelhaft charakterisiert sind.

#### d) Gloeocapsin.

Bei einigen Fadenalgen, namentlich bei der Gattung Gloeocapsa, findet sich dieser Farbstoff vor. Er verleiht der Membran eine rote oder blaue Farbe. Er wird durch Kali blau oder blauviolett und durch Salzsäure rot (schön rosarot, rotorange oder bläulichrot).

#### e) Sceptonemin.

Dieser Farbstoff färbt besonders die Membran vieler fadenförmiger Nostocaceen (Scytonema, Schizosiphon usw.) gelb bis braun. Er wird durch Säuren allmählich grün, durch Alkalien mehr rotbraun, durch Neutralisierung in seiner ursprünglichen Farbe wieder hergestellt. Nach CORRENS (I) nimmt er mit Chlorzinkjod sowie auch mit Jod und Schwefelsäure eine blauviolette Färbung an, die mit der der entsprechenden Zellulosereaktionen eine große Ähnlichkeit hat.

#### f) Bixin, $C_{22}H_{34}O_5$ oder $C_{21}H_{34}O_5$

Bixa Orellana L., ein tropischer Strauch, liefert seit uralter Zeit in der äußeren Schicht der Samenschale den als Annatto oder Orlean bekannten roten Farbstoff. Er wird durch Umrühren der Samen in Wasser gewonnen und dient zum Färben von Butter, Käse, Schokolade, Wachs usw. Das färbende Prinzip ist das Bixin.

Eigenschaften. Braunrote bis hochrote rhombische Kristalle. Nur wenig löslich in den gebräuchlichen organischen Lösungsmitteln. Löslich in Chloroform, besonders im Pyridin und Chinolin. In konzentrierter Schwefelsäure löst er sich mit tiefblauer Farbe. Zum Nachweis kann man die Farbenreaktion mit Schwefelsäure verwenden. Die Epidermiszellen der Samenschale sind mit einer braunroten Masse erfüllt, die das Bixin enthält. Behandelt man diese Zellen mit konzentrierter Schwefelsäure, so tritt — es ist dies nach der Provenienz der Samen verschieden — entweder nur stellenweise Blau- oder Blaugrünfärbung oder nur Schwarzbraunfärbung ein, weil die Bixinreaktion durch die verkohlende Wirkung der Schwefelsäure gedeckt wird. Wird aber der Farbstoff durch Chloroform zuerst in Lösung übergeführt und beim Verdunsten am Deckglasrande in relativ reiner Form abgeschieden, so erhält man damit die Blaufärbung mit Schwefelsäure sehr prompt.

Histochemisches. Als Sitz des Orleanfarbstoffes wird in der Literatur bald das Fruchtfleisch, bald eine in der Frucht vorhandene Pulpa, bald ein Überzug der Samen bezeichnet. Nach den Angaben von HARTWICH (II) aber kommt in der Fruchtwand überhaupt kein Orlean vor, noch ist von einem Fruchtfleisch oder einer Pulpa etwas zu sehen.



Der Farbstoff findet sich vielmehr in der äußersten Schichte, d. h. in der Epidermis des Samens (Fig. 96). Die Samenschale zeigt nach HARTWICH auf dem Querschnitte folgende Schichten:

1. Eine einfache Schicht dünnwandiger großer Zellen, die einen roten, unterm Mikroskop rotbraun erscheinenden amorphen, ziemlich homogenen oder splitterigen Inhalt haben. Diese Schicht ist die Epidermis und ist der Sitz des Farbstoffes. Sie ist sehr spröde und löst sich leicht von dem Samen ab.

2. Eine Schicht säulenförmiger Zellen, deren Lumen schmal, fast linienförmig ist.

3. Eine Lage kleiner Zellen mit gelbbraunem Inhalt, der sich mit Eisenchlorid schwärzt.

4. Eine Schicht tangential gepreßter Zellen, an die sich eine Lage sanduhrartiger Zellen anschließt.

5. Zuletzt eine einfache Schicht kleiner Zellen, deren Inhalt sich ebenfalls mit Eisenchlorid schwärzt (Fig. 96).

HARTWICH gibt zwischen den Schichten 1 und 2 noch eine einfache Lage von Zellen an, diese konnte ich aber nicht auffinden.

BLENN (I) fand im Chlorophyllgewebe der Blätter von *Bixa* große,

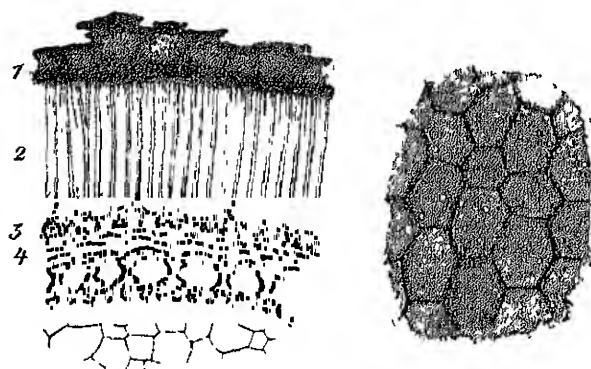


Fig. 96.

*Bixa Orellana*.

Links, Querschnitt durch die Samenschale. Die oberste Schichte (1) enthält das Bixin. Vergr. 150

Rechts, die Bixinschichte (1) von oben gesehen, nach Behandlung mit Alkohol. Vergr. 90. Vgl. d. Text

flach zusammengedrückte Sekretzellen, länglich oder in mehreren Lappen ausgezogen, mit einem gelben oder braunen Harz. VAN FRIEGHEM (I) sah sie auch in der primären Rinde der Zweige und in der Wurzel. Die Unterseite des Laubblattes erscheint, wie schon mit freiem Auge, noch besser mit der Lupe beobachtet werden kann, ganz besät mit braunen Pünktchen. Das sind die Sekretzellen. Da ihr Inhalt, wie ich gefunden habe, prompt die Blaufärbung mit konzentrierter Schwefelsäure gibt und sich im wesentlichen auch sonst wie der Inhalt der Samenepidermis verhält, so zweifle ich nicht, daß auch die Sekretbehälter Bixin enthalten. Dieser Farbstoff kommt also nicht bloß in der Samenepidermis, sondern auch in den vegetativen Organen der Pflanze, und zwar scharf lokalisiert vor.

g) Crocin,  $C_{24}H_{36}O_{12}$ .

Die Blütennarben von *Crocus sativus* L. var. *autumnalis* L. (Iridee) liefern das im Haushalte und in der Medizin verwendete, unter dem

Namen Safran bekannte Produkt. Der Safran verdankt seine Verwendung einem Farbstoff, dem Crocin oder Polychroit.

In reinem Zustand stellt der Farbstoff ein gelbes Pulver dar, das sich leicht in Wasser und verdünntem Weingeist, wenig in absolutem Alkohol, nur spurweise in Äther löst. Das Tinktionsvermögen des Crocins muß als ein ganz außerordentliches bezeichnet werden, denn ein Teil Safran färbt nach HANAUSER 200000 Teile Wasser noch deutlich. Konzentrierte Schwefelsäure gibt eine tiefblaue Lösung, die nach kurzer Zeit violett, kirschrot und dann braun wird. Salpetersäure färbt momentan blau, aber nur für einen Augenblick, dann wird die Lösung sofort braun. Salzsäure löst den Farbstoff mit gelber Farbe. Er zerfällt beim Erwärmen mit verdünnter Salzsäure in Crocetin und Zucker und ist nach KAYSER (I) als Glykosid aufzufassen.

Nach den Untersuchungen von SCHÜLER (I) aber wäre Crocin ein Phytosteinester der Palmitin- und Stearinsäure und den Carotinoiden in dieser Richtung gleich. Gegen SCHÜLER wandte sich DECKER (I). Er behauptet, daß der Farbstoff mit den fettsauren Phytosterinestern nichts zu tun hat, wohl aber in naher Beziehung zum ätherischen Safranöl, also zu den Terpenen steht.

KLEIN (II, 246) spricht sich gegen die Carotin-Natur des Crocinfarbstoffes aus, hauptsächlich weil er ein in Wasser lösliches Glykosid ist und mit Basen Salze bildet. Der Genannte stellt ihn auf Grund seiner Untersuchungen zu den wasserlöslichen Flavonabkömmlingen und konnte ihn auch kristallisieren.

Das Crocin findet sich bei der käuflichen Ware in allen Elementen vor, sowohl im Zellinhalt als in der Wand. In der lebenden Narbe fehlt der Farbstoff nur in den Schraubengefäßen. Bei Untersuchung frischer Narben sieht man, daß der Farbstoff im Zellsaft gelöst vorkommt und ihn gleichmäßig tingiert. Es macht zwar oft den Eindruck, als ob auch das Plasma gefärbt wäre, allein an dünnen Schnitten erweisen sich Plasma und Kern farblos. Nach dem Absterben der Narben tritt diese räumliche Trennung des Farbstoffes auf, und dieser tritt dann ins Plasma und in die Wand ein — Die oben angeführte Eigenschaft des Crocins, sich mit Schwefelsäure blauviolett zu färben, läßt sich auch mikroskopisch demonstrieren (MOLISCH XX), wenn man die zerbröckelte Narbe (Handelsware) in einem Wassertropfen etwa 5—10 Minuten liegen läßt, bis sich eine stark gelb gefärbte Lösung gebildet hat, und dann rasch einen großen Tropfen konzentrierte Schwefelsäure hinzufügt. Der Tropfen färbt sich dann momentan blau bis blauviolett. Daß diese Färbung eine dem Crocin nicht ausschließlich eigentümliche, sondern bekanntlich dem Bixin und den (allerdings in Wasser nicht löslichen) Carotinenzukommt, soll nur nebenher erwähnt werden (MOLISCH XX).

Crocetin gibt mit Anilin ein gut kristallisierendes Salz und darauf beruht eine von TUNMANN (V) vorgeschlagene Probe des Crocetin-nachweises. Wird Saframpulver unterm Deckglas in Anilin bis zur Blasenbildung 2—3 Minuten erwärmt, so entstehen in 10—12 Stunden dunkelrote, in Rotbraun polarisierende, bis  $70\ \mu$  große Sphärite von Anilin-Crocetin. Von Carotinenzukennt man diese Reaktion bisher nicht.

Verbreitung Abgesehen von Crocus-Arten kommt Crocin noch in den chinesischen Gelbschoten, d. h. den getrockneten Früchten

mehrerer *Gardenia*-Arten und angeblich auch in der *Scrophularinee* *Fabiana indica* vor.

### h) Curcumin.

#### Vorkommen.

Im Wurzelstock verschiedener, zu den Zingiboraceen gehörigen *Curcuma*-Arten, namentlich der *C. Longa* L. finden sich in dem Stärkeparenchym eingestreut Sekret-(Ölharz-)zellen, die in der Droge ein orangegelbes oder orangebraunes ätherisches Öl oder einen Harzklumpen enthalten. Ursprünglich führen sie nach VOGEL (I, 511) ganz allein neben farblosem Öl den charakteristischen gelben Farbstoff, das Curcumin. Beim Abbrühen und Trocknen des Rhizoms diffundiert der Farbstoff in die Umgebung und färbt daher in der Droge alle Teile, insbesondere das Plasma der Zellen, gelb.

**Eigenschaften.** Nach DAUBE (I) kristallisiert das Curcumin anscheinend in orthorhombischen Prismen, die bei durchfallendem Licht in tief wein- bis bernsteingelber, bei auffallendem in orangegelber Farbe mit Perl- bis Diamantglanz erscheinen. In Wasser kaum löslich, besser in Chloroform, Alkohol und Äther, weniger in Benzol und Schwefelkohlenstoff. Konzentrierte Mineralsäuren nehmen ihm mit intensiv roter Farbe, aber nicht unverändert auf, Alkalien lösen leicht mit lebhaft rotbrauner Farbe. — Die nicht alkalische weingeistige Lösung fluoresziert schön grün, die alkalische rot. Das mit dem Farbstoff getränkte Papier (Curcumapapier) dient bekanntlich als Indikator, denn es nimmt durch Alkalien eine braunrote, beim Trocknen in Violett übergehende Färbung an, die durch Säuren wieder in Gelb übergeführt wird. Mit Borsäure gibt Curcumapapier beim Trocknen eine orangerote Färbung, die durch verdünnte Alkalien in Blau, durch Säuren aber nicht verändert wird.

**Histochemisches.** Nach HERRMANN (I, 24) finden sich in dem Grundgewebeparenchym des frischen Rhizoms (*Curcuma amata*) neben Stärkekörnern zahlreiche verschieden große Tröpfchen ätherischen Öles vor, die farblos bis intensiv gelb erscheinen. Die gefärbten Tröpfchen nehmen mit konzentrierter Schwefelsäure eine karmoisinrote Farbe an. Diese Reaktion rührt von Curcumin her, das in einem farblosen Öl gelöst ist. Auch ROSOL (I) bediente sich, augenscheinlich ohne die Arbeit HERRMANN'S zu kennen, der Schwefelsäure und der Alkalien zum Nachweis des Farbstoffes im Gewebe. Abgesehen von den Alkalien und der Schwefelsäure konnte ich auch Salzsäure, die Curcumin intensiv rot färbt, gut verwenden, hingegen erhielt ich im Gegensatz zu HERRMANN mit essigsäurem Blei weder mit der Droge noch mit frischem Material (*Curcuma Zerumbet* Rosz.) einen ziegelroten Niederschlag.

### i) Helichrysin.

Die gelben Hüllblätter gewisser Strohblumen, wie z. B. des *Helichrysum bracteatum* Willd. (var. *monstrosum*), besitzen einen eigenartigen gelben Farbstoff, den ROSOL (II) untersucht und Helichrysin genannt hat. Diese Strohblume wird schon lange von den Gärtnern mit Borax und verdünnter Salzsäure gefärbt; ihre Involukrallblätter nehmen in diesem Gemisch eine lebhaft, schön rubinrote Farbe an und werden in diesem gefärbten Zustande für Imortellenkränze verwendet.

**Eigenschaften.** In Wasser, Weingeist, Alkohol, organischen Säuren löslich, in Benzol, Chloroform und Schwefelkohlenstoff unlöslich. Der Farbstoff wird sowohl durch Alkalien als auch durch Mineralsäuren purpurrot gefärbt, von Metalloxyden und deren Salzen im Extrakt mit roter Farbe gefällt, in alkalischer Lösung von Natriumamalgam und schwelliger Säure stark reduziert und gehört nach KLEIN (I, 49, II, 240) in die Anthochlorgruppe.

#### Vorkommen und Sitz.

Das Helichrysin kommt, abgesehen von *Helichrysum bracteatum*, auch bei *H. arnarium* DC., *H. orientale* L., *H. foetidum* Cass. und *H. hebelepis* DC. und bei *Statice Bonduelli* Steslib. vor. Es ist in den jungen Blättchen an das Plasma und in den älteren, wo das Plasma bereits aufgebraucht ist, an die Zellwand gebunden.

#### j) Serratulin.

*Serratula tinctoria*, die Färberscharte, ist eine zu den Kompositen gehörige, alte Färbepflanze, die, wie aus übereinstimmenden Angaben der älteren und neueren Literatur hervorgeht, einen gelben Farbstoff, das Serratulin, enthalten soll. Die Pflanze wurde früher zum Gelbfärben und zur Darstellung des Schüttgelbs verwendet.

Wie MOLISCH gezeigt hat, beruht aber die herrschende Ansicht, wonach *Serratula* schon in vivo einen gelben Farbstoff führen soll, auf einem Irrtum. Die lebende Pflanze besitzt in ihren Zellen eine farblose Substanz, das Serratulan, das erst postmortal unter der Einwirkung gewisser Stoffe (Alkalien usw.) einen intensiv gelben Körper, das Serratulin liefert. Das Serratulan kommt in der Wurzel, im Stamme und besonders reichlich im Laubblatte vor (MOLISCH XXI).

### Anhang.

#### Luteofilin.

In dem aus dem verwundeten Blatte von *Chrys nobilis* hort ausfließenden Schleim schießen schon nach wenigen Minuten unter Deckglas Hunderte von Sphärokristallen an, die einem neuen, von mir Luteofilin genannten Körper angehören (MOLISCH III, 94).

Die Sphärite sind löslich in Wasser, hingegen unlöslich in absolutem Alkohol, Äther und Benzol. Konzentrierte Salzsäure bringt die Kristalle rasch zum Verschwinden und erzeugt aus ihnen eine kristallinische Masse oder regelmäßige, knollige Sphärite. Bemerkenswert ist das Verhalten zu Kalilauge. Bei Einwirkung einer etwa 20proz. Kaliumhydroxydlösung entsteht unterm Deckglas unter gleichzeitigem allmählichen Verschwinden der Sphärite ein kanariengelber, kristallinischer Brei. In der Nähe der Sphärite bilden sich ellipsoidische, kugelförmige, etwas weiter wurzel- oder rübenartige Kristalle und in weiterer Entfernung entweder gelbe, amorphe, körnige Niederschläge oder höchst eigenartige haarartige Bildungen, eine Art Filz von geschlängelten,

oft außerordentlich feinen gelben Fäden, die lobhaft an ein Pilzmycelium erinnern. Sie erscheinen im durchfallenden Lichte kanariengelb und besonders die haarartigen in auffallendem Lichte, namentlich gegen einen schwarzen Hintergrund betrachtet (infolge von Fluoreszenz) blau. Natronlauge und Ammoniak geben die eben besprochene „Filzreaktion“ nicht. Die Sphärite geben nicht die Magnesia- und auch nicht die Phosphorsäurereaktion. Da sie auf Zusatz von  $\alpha$ -Naphthol und konzentrierter Schwefelsäure keine Violettfärbung, also keine Zucker-(Furfuroh)Reaktion geben, so möchte ich nach all meinen Erfahrungen den Schluß ziehen, daß die Sphärite aus einer organischen Substanz bestehen, die weder zu den Kohlehydraten noch zu den Glykosiden gehört. Das Luteofilin ist nicht auf *Olivia* beschränkt. Ich konnte es bei zahlreichen Amaryllidaceae, Liliaceae, Gramineae, bei einer Commelineae (*Dichorisandra ovata* hort.) und sogar auch bei Dicotylen, nämlich bei den beiden Lobeliaceen *Centropogon Luciani* und *Lobelia inflata* (im Milchsaft) konstatieren (MOLISCH III, 99).

### Chromogen in *Scheuchia*.

Ein auffallendes Chromogen entdeckte MOLISCH (XXIV) bei der in Brasilien vorkommenden Rubiacee *Scheuchia blumenavianna*. Die Blätter dieser Pflanze erscheinen dunkelgrün. Stirbt aber ein Stengel oder ein Blatt ab, so färben sich beide rot. Wird ein Blatt gequetscht oder mit dem Fingernagel geritzt, so tritt nach 1–2 Tagen Rotfärbung an der Wundstelle ein. Bringt man einen behaarten Zweig in eine Chloroform-Atmosphäre, so tritt nach einiger Zeit, wenn die Organe absterben, die Rötung ein. Nach etwa 6 Stunden hat die Rötung den höchsten Grad erreicht. Legt man einen nunmehr geröteten Zweig in absoluten Alkohol, so geht das Chlorophyll in Lösung und man erhält ein prachtvolles Danerpräparat, das die Verteilung des roten Farbstoffes in allen Teilen in höchst anschaulicher Weise erkennen läßt. Die Wurzel zeigt in Chloroformdampf postmortal die Rotfärbung besonders schön. Auch wenn ein lebender Zweig in 20proz. Alkohol eingetaucht wird, entsteht gleichfalls der rote Farbstoff und die Flüssigkeit fluoresziert schon blau.

Eine bestimmte Lokalisierung des roten Farbstoffes konnte in den Organen nicht nachgewiesen werden. Er findet sich sowohl in der Wurzel, dem Blatt, dem Stamm als auch in der Blüte und tingiert nicht bloß den Inhalt der Zelle, sondern auch deren Wand. Ob auch schon das Chromogen die gleichmäßige Verteilung zeigt, bleibt zweifelhaft. Die Natur des Farbstoffes konnte aus den Reaktionen bisher nicht erschlossen werden, doch läßt sich jetzt schon sagen, daß das Chromogen nicht Rubian (Ruberythrinäure) ist und daß der rote Farbstoff weder mit Abzarin noch mit Purpurin, noch mit einem derzeit bekannten roten Pflanzenfarbstoff (Anthokyan, Phycocerythrin usw.) zu identifizieren ist.

### Chromogen in *Eupatorium adenophorum*.

Schon vor mehr als 30 Jahren machte ich die bisher noch nicht veröffentlichte Beobachtung, daß *Eupatorium adenophorum* ein farbloses Chromogen enthält, das beim Absterben der Zellen einen grünen Farbstoff erscheinen läßt.

1. Wird ein Tropfen Saft aus dem jungen, weichen, noch nicht ausgewachsenen Stengel, etwa aus dem 2. bis 4. Internodium von der Spitze gerechnet, ausgepreßt, so färbt sich der ursprünglich fast farblose Saft nach 1 Minute vorübergehend

deutlich grün. Breitet man den frischen Tropfen in sehr dünner Schicht rasch aus, so daß er in kurzer Zeit eintrocknet, so bleibt der inzwischen eingetrocknete Rückstand in seiner grünen Farbe erhalten.

2. Wird ein frischer Querschnitt durch den jungen Stengel im Mikroskop betrachtet, so färben sich die Markzellen und die unter der Oberhaut und dem Kollenchym liegenden Zellen der primären Rinde deutlich grün. Die Farbe wird intensiver und bleibt länger erhalten, wenn man den frischen Schnitt rasch mit einem Tropfen abs. Alkohol bedeckt. Ähnlich wie der Stengel verhalten sich junge Blattstiele. Der grüne Farbstoff ist nicht Chlorogensäure.

### Die schwarze Farbe.

Manche Pflanzen und Pflanzenteile sind durch eine schwarze Färbung ausgezeichnet. Die Ursache kann ein schwarzer Körper sein, in sehr vielen Fällen kommt aber die schwarze Farbe durch konzentriertes Anthocyan oder eine Kombination von Anthocyan und Chlorophyll oder braunen Farbstoffen zustande. MOEBIUS (II) hat diesen Gegenstand ausführlich untersucht, aus der Fülle von Beispielen können jedoch hier nur einige wenige angeführt werden.

Manche Cyanophyceen erscheinen dem freien Auge schwarz, obwohl sie blau-violettes Phycocyan enthalten. So verdanken die schwarzen Felsen von Angola in Südafrika ihre Farbe der Blaualge *Seytonema myochrous* v. *chotographica*.

Die Blumenblätter der tiefschwarzen Gartenvarietät von *Viola tricolor* enthalten konzentriertes Anthocyan.

Mitunter tritt Anthocyan in Kombination mit Chlorophyll, wodurch ganz auffallend dunkle Färbungen erzielt werden. So bei den schwarzen Flecken auf den Laubblättern von *Arum maculatum*, bei den schwarzen Beeten von *Rubus nigrum* und den schwarzen Nektarien auf den Stipulae von *Vicia faba*. In all den angeführten Fällen liegt der Farbstoff im Zellinhalt, er kann aber auch ausschließlich in der Zellhaut liegen: schwarze Farbe der Brakteen von *Carex*- und *Luzula*-Arten, schwarze Spitzen der *Equisetum*-Blätter, Fruchtschale von *Chamaedorea*-Arten, Samenschale von *Nigella sativa*, gewisse Pilze, Flechten usw. Über die durch Antophacin und durch Phytomelane hervorgerufenen Schwarzfärbungen vergleiche p. 270

### Literatur

zu p. 205 bis 279

- Baccarini, P., I. Sopra la presenza di Indolo nei fiori di alcune piante (Bull. Soc. bot. ital, 1910 p. 96 u. 1911, p. 105; Rel. Bot. Zbl. 1912, Bd. CXX, p. 238)
- Bachmann, E., I. Über nichtkristallisierte Flechtenfarbstoffe usw. (Jahrb. f. wiss. Bot. 1890, Bd. XXI, p. 1)
- , II. Mikrochemische Reaktionen auf Flechtenstoffe als Hilfsmittel zum Bestimmen von Flechten. (Ztschr. f. wiss. Mikroskopie 1886, Bd. III, p. 216)
- , III. Mikrochemische Reaktionen auf Flechtenstoffe (Flora 1887, p. 291.)
- , IV. Emodin in *Nephroma lusitanica* (Ber. d. Deutsch. bot. Ges. 1887, p. 192)
- Beyerinck, M. W., I. Kon. Akad. Wetensch. Amsterdam; Repz. from Proc. meet. Saturday, Sept. 30, 1899, March 31, 1900, Juni 1900.
- , II. Further researches on the formation of Indigo from the Woad (*Isatis tinctoria*). Kon. Akad. Wetensch. Amsterdam. August 1900, p. 101.
- , II. On the formation of Indigo from the Woad (*Isatis tinctoria*). Ebenda 1899, Okt. 25.)

- Beyerinck, M. W., IV. On Indigo-fermentation. *Ebenda* 1900, April 25.
- Blenk, P., I. Über die durchsichtigen Punkte in den Blättern. (*Flora* 1884, p. 107.)
- Borodin, J., I. Über Chlorophyllkristalle. (*Bot. Ztg.* 1882, Jahrg. 40, p. 608.)
- Boréšow, El., I. Beitr. z. Histochemie der Pflanze. (*Bot. Ztg.* 1874.)
- Buscalioni, L. und Pollacci, G., I. Le antocyanine ed il loro significato biologico nelle piante. (*Atti dell'ist. bot. dell'università di Pavia* 1903, Milano.)
- Combes, R., I. Recherches sur la formation des pigments anthocyaniques. (*Compt. rend.* 1911, T. CLIII, p. 886.)
- Correns, C., I. Über Dickenwachstum durch Intususszeption bei einigen Algenmembranen. (*Flora* 1889, p. 327.)
- Courchet, M., I. Recherches sur les chromoleucites. (*Ann. des scienc. nat. 7. sér. Botanique* 1888, T. VII, p. 361 u. 362.)
- Czapek, F., I. Biochemie der Pflanzen, 1905, Bd. II, p. 534.
- , II. Über Orseillefärbung. (*Zbl. f. Bakt.* 1898, 2. Abt., Bd. IV, p. 49.)
- , III. Über die Farbstoffe der Fucaceen. (*Notos. Bd. LIX, Prag* 1911.)
- Daube, I. *Berl. Ber.* 1870, p. 600.
- Decaisne, I. Recherches anatomiques et physiol. sur le garance etc. Bruxelles 1837.
- Decker, F., Beiträge zur Kenntnis des Crocotins. (*Arch. d. Pharmacie* 1914, p. 139.)
- Dennert, E., I. Anatomie und Chemie des Blumenblattes. (*Bot. Zbl.* 1889, Bd. XXXVIII, p. 430.)
- Ehrlich, I. *Deutsche med. Wochenschr.* 1901 (Aprilheft)
- Eriksson, E., I. Über die Alkannawurzel und die Entstehung des Farbstoffes in derselben. (*Ber. d. Deutsch. pharm. Ges.* 1910, Jahrg. 20, p. 202.)
- Fünfstück, M., I. Lichenes (Flechten). (In Engler-Prantl, *Die natürl. Pflanzenfamilien*, Leipzig 1907, I. Teil, Abt. I., p. 1.)
- Gaidukov, N., I. Über das Chrysochrom. (*Ber. d. Deutsch. bot. Ges.* 1900, Bd. XVIII, p. 331.)
- Gnezdka, J., I. *Comptes rend.* 1899, T. CXXVIII, p. 1581.
- Goldschmidt, Gen. und Zerner, E., I. Über das Scutellum. (*Sitzungsber. d. Kais. Akad. d. Wiss. in Wien* 1910, Abt. IIb, Bd. CXIX, p. 327.)
- Grate, V., I. Studien über das Anthocyan I., II. und III. Mitt. (*Sitzungsber. d. Kais. Akad. d. Wiss. in Wien* 1906, 1909 und 1911.)
- , Einführung in die Biochemie 1913. Leipzig und Wien.
- Hansen, A., I. Die Farbstoffe der Blüten und Früchte. (*Verh. d. phys.-med. Ges. zu Würzburg. N. F.* Bd. XVIII, Nr. 7.)
- Hartwich, I. *Realencyklopädie d. ges. Pharm.*
- , II. Über den Orlean. (*Archiv d. Pharm.* 1890, Bd. CCVIII, p. 415.)
- Hassack, C., I. Untersuchungen über den anatomischen Bau harter Laubblätter usw. (*Bot. Zbl.* 1886, p. 84.)
- Herrmann, O., I. Nachweis einiger organischer Verbindungen in den vegetabilen Geweben. *Inaug.-Diss.* Leipzig 1876.
- Hesse, O., I. Die Flechtenstoffe. (In *ABDERHALDEN'S Biochem. Handlexikon* 1910, Bd. VII, I. Hälfte, p. 32.) Vgl. ferner *Journ. f. prakt. Chemie* 1898, 58, p. 430; 1902, 65, p. 557; 1907, 76, p. 38.
- Holmes, E., I. *Diss.* Erlangen 1896.
- Karzel, R., I. Beiträge zur Kenntnis des Anthocyans in Blüten. (*Österr. bot. Ztschr.* 1906, Nr. 9.)
- Kayser, R., I. *Ber. d. Deutsch. chem. Ges.* 1881, Bd. XVII, p. 2228.

- Klebs, G., I. Ein kleiner Beitrag zur Kenntnis der Peridineen. (Bot. Ztg. 1884, p. 721.)
- Klein, G., I. Studien über das Anthochlor. I. Mitt. (Sitzungsber. d. Akad. d. Wiss. in Wien 1920, Abt. I., Bd. CXXIX.)
- , II. Studien über das Anthochlor. II. (Ebenda 1921, p. 234.)
- , III. Der histochemische Nachweis der Flavone. (Ebenda 1922, p. 23—46.)
- Kohl, F. G., I. Untersuchungen über das Carotin und seine physiologische Bedeutung in der Pflanze. Leipzig 1902.
- , II. Die Farbstoffe der Diatomeen-Chromatophoren. (Ber. d. Deutsch. bot. Ges. 1900, Bd. XIV, p. 124.)
- Krasser, F., I. Flechten. (In WIESNERS „Die Rohstoffe des Pflanzenreichs“ 1900, 2. Aufl., Bd. I, p. 654.)
- Kyllin, H., I. Über Phykoerythrin und Phykocyan bei *Ceramium rubrum* (Huds.) Ag. (Hoppe Seylers Ztschr. f. physiol. Chemie 1910, Bd. LXIX, p. 169)
- , II. Über die roten und blauen Farbstoffe der Algen. (Ebenda 1912, Bd. LXXVI, p. 396.)
- , III. Über die Farbstoffe der Fucoiden. (Ebenda 1912, Bd. LXXXII.)
- , IV. Über die Farbe der Florideen und Cyanophyceen. (Svensk Botanisk Tidsskrift 1912, Bd. VI, H. 3, p. 533.)
- Leake, H. M., I. The localisation of the Indigo-producing Substance in Indigo-yielding Plants. (Annals of Botany 1905, Vol. XIX, p. 297.)
- Lohmann, K. B. und Neumann, R. O., I. Atlas und Grundriß der Bakteriologie usw. 1907, 2. Teil, 4. Aufl., p. 77.
- Liebaldt, E., I. Über die Wirkung wässriger Lösungen oberflächenaktiver Substanzen auf die Chlorophyllkörner (Ztschr. f. Bot. 1913, Jahrg 5, p. 65.)
- Marchlewski, L., I. Die Chemie der Chlorophylle Braunschweig 1909.
- Meyer, A., I. Das Chlorophyllkorn usw. Leipzig 1883.
- Mitlacher, W., I. Zur Mikrochemie einiger Emodindrogen (Pharm. Praxis 1906, 5. Jahrg, p. 433.)
- Moebs, M., I. Das Anthophlavin, der braune Blütenfarbstoff (Ber. d. Deutsch. bot. Ges. 1900, Bd. XVIII, p. 341)
- , II. Die Entstehung der schwarzen Färbung bei den Pflanzen. Ebenda.
- Molisch, H., I. Die Purpurbakterien nach neuen Untersuchungen Jena 1907, p. 74
- und Goldschmidt, G., II. Über das Scutellarin, einen neuen Körper bei Scutellaria und anderen Labiaten. (Sitzungsber. d. Kais. Akad. d. Wiss. in Wien 1901, Bd. CX, Abt. I, p. 185)
- , III. Studien über den Milchsäure- und Schleimsäuregehalt der Pflanzen Jena 1901, p. 107.
- , IV. Das Vorkommen und der Nachweis des Indicans in der Pflanze nebst Beobachtungen über ein neues Chromogen. (Sitzungsber. d. Kais. Akad. d. Wiss. in Wien 1893, Bd. CII, Abt. I, p. 269)
- , V. Indigo (In WIESNERS „Rohstoffe des Pflanzenreichs usw.“ 1903, 2. Aufl., Bd. I, p. 423.)
- , VI. Botanische Beobachtungen auf Java. I. Über die sog. Indigogärung und neue Indigopflanzen. (Sitzungsber. d. Kais. Akad. d. Wiss. in Wien 1898, Bd. CVII, Abt. I, p. 773.)
- , VII. Botanische Beobachtungen auf Java. IV. Über Pseudindicin, ein neues Chromogen in den Cystolithen von Acanthaceen (Ebenda 1899, Bd. CVIII, Abt. I, p. 479.)
- , VIII. Über das Vorkommen von Indican im Chlorophyllkorn der Indicanpflanzen (Ber. d. Deutsch. bot. Ges. 1899, Bd. XVII.)



- Molisch, H., IX. Eine neue mikrochemische Reaktion auf Chlorophyll. (Ebenda 1896, Bd. XIV, p. 16.)
- , X. Die Pflanze in ihren Beziehungen zum Eisen. Jena 1892, p. 81.
- , XI. Die Kristallisation und der Nachweis des Xanthophylls (Carotins) im Blatte (Ber. d. Deutsch. bot. Ges. 1896, p. 27—28.)
- , XII. Über vorübergehende Rotfärbung der Chlorophyllkörner in Laubblättern. (Ebenda 1902, Bd. XX, p. 442.)
- , XIII. Über den braunen Farbstoff der Phaeophyceen und Diatomeen. (Bot. Ztg. 1905, p. 131.)
- , XIV. Erwiderung auf die Kritik M. Tswetts. (Ebenda p. 360.)
- , XV. Das Phykoerythrin, seine Kristallisierbarkeit und chemische Natur. (Ebenda 1894, p. 177.)
- , XVI. Das Phykocyan, ein kristallisierbarer Eiweißkörper. (Ebenda 1895, p. 131.)
- , XVII. Untersuchungen über das Phykocyan. (Sitzungsber. d. Kais. Akad. d. Wiss. in Wien 1906, Bd. CXV, Abt. I, p. 795.)
- , XVIII. Über amorphes und kristallisiertes Anthocyan. (Bot. Ztg. 1905, p. 150.)
- , XIX. Blattgrün und Blumenblau. (Vorträge d. Vereins z. Verbreitung naturw. Kennt. in Wien 1890, 30. Jahrg., p. 21.)
- , XX. Grundriß einer Histochemie der pflanzlichen Genußmittel. Jena 1891, p. 57.
- , XXI. Beitr. z. Mikroch. Nr. 7: Über das Serratulin. (Ber. d. Deutsch. bot. Ges. 1916, Bd. XXXIV, p. 554.)
- , XXII. Über organische, kristallisierende Stoffe in *Gentiana germanica* Willd. (Ebenda 1917, Bd. XXXV, p. 653.)
- , XXIII. Kristallisiertes Carotin in der Nebenkronen von *Narcissus poeticus*. (Ebenda 1918, Bd. XXXVI, p. 281.)
- , XXIV. Über ein neues, einen karminroten Farbstoff erzeugendes Chromogen bei *Schenckia blumenaviana* K. Sch. (Ber. d. Deutsch. bot. Ges. 1901, p. 149.)
- Müller, H., I. Der Nachweis und die Verbreitung des Rhinanthus (*Pseudomedeus*). (Monatshefte der Pharmazent. Post 1922)
- Nadson, G., I. Über die Pigmente der Pilze. (Arbeiten d. St. Petersburg. Naturf.-Ges., Abt. f. Bot. 1891, p. 132.)
- Naegeli, C. und Schwendener, S., I. Das Mikroskop usw., 2. Aufl. Leipzig 1877.
- Nestler, A., I. Zur Kenntnis des Rhinanthocyans. (Ber. d. Deutsch. bot. Ges. 1920, p. 117.)
- Newton, I. Americ. Journ. of Pharm. 1898, p. 346.
- Oesterle, O. A., I. Archiv d. Pharm. 1903, Bd. CCXLI, p. 601.
- , II. Beitr. z. Kenntnis d. Aloins. (Ebenda 1899, Bd. CCXXXVII, p. 81.)
- und Tisza, E., III. Zur Kenntnis des Morindins. (Arch. d. Pharm. 1907, p. 534, und 1908, p. 150.)
- Oveiton, E., I. Beobachtungen und Versuche über das Auftreten von rotem Zellsaft bei Pflanzen. (Jahrb. f. wiss. Bot. 1899, Bd. XXXIII, p. 323.)
- Pedersen, G., I. Beiträge zur Kenntnis des Aloë. (Archiv d. Pharm. 1898, Bd. CCXXXVI, p. 200.)
- Portheim, L. v. und Scholl, E., I. Untersuchungen über die Bildung und den Chemosismus von Anthocyanen. (Ber. d. Deutsch. bot. Ges. 1908, Bd. XXVIA, p. 480.)
- Prantl, K., I. Notiz über einen neuen Blütenfarbstoff. (Bot. Zbl. 1871, Jahrg. 29, p. 425.)
- Pringsheim, N., I. Über Lichtwirkung und Chlorophyllfunktion in der Pflanze. (Jahrb. f. wiss. Bot. 1879—1881, Bd. XII, p. 295.)

- Prollius, F., I. Über Bau und Inhalt der Aloineenblätter, Stämme und Wurzeln. (Archiv d. Pharm. 1884.)
- Pulitzer, G., I. Über die Verbreitung des Alkannins bei den Borragineen und sein Auftreten in der Pflanze. (Österr. bot. Ztschr. 1915, p. 177.)
- Rosoll, A. I. Über den mikrochemischen Nachweis des Curcumina und Coulins in den veg. Geweben. (29. Jahresb. d. niederböhm. Landes-Ober-Realschule in Wiener-Neustadt 1894, p. 4.)
- , II. Beiträge zur Histochemie der Pflanze. (Sitzungsber. d. Kais. Akad. d. Wiss. in Wien 1884, Bd. LXXXIX, Abt. I, p. 137.)
- Rothert, W., I. Über Chromoplasten in vegetativen Organen. (Extr. d. Bull. de l'acad. d. scienc. de Cracovie 1911, p. 189.)
- Rupe und Altenburg, I. In ABDERHALDENS „Biochem. Hand-Lexikon“ 1911 Bd. VI, p. 89.)
- Russel, W., I. Recherches expérimentales sur les principes actifs de la garance. (Revue génér. de Bot. Paris 1905, T. XVII, p. 254.)
- Sack, J., I. Pharm. Weekbl. 1911, 48, Nr. 13.
- Schimper, A. F. W., I. Untersuchungen über die Chlorophyllkörner usw. (Jahrb. f. wiss. Bot. 1885, Bd. XVI.)
- Schlokow, A., I. Zur Anatomie der braunen Blüten. Inaug.-Diss., Heidelberg 1903.
- Schmied, H., I. Über Carotin in der Wurzel von Dracaena und anderen Liliaceen (Österr. bot. Ztschr. 1903, p. 313.)
- Schuler, O., I. Über die Bestandteile des Safrans usw. (Inaug.-Diss., München 1899. Ref. Bot. Zbl. 1901, Bd. LXXXVII, p. 152.)
- Schutt, F., I. Über Peridinefarbstoffe. (Ber. d. Deutsch. bot. Ges. 1890.)
- Schwarz, J., I. Chemisch-botan. Studien über die in den Flechten vorkommenden Flechtensäuren (Beitr. z. Biologie d. Pflanzen 1883, Bd. III, p. 254.)
- Senft, E., I. Ein neues Verfahren zum mikrochemischen Nachweis der Flechtensäuren (Pharm. Praxis 1907, Nr. 12.)
- , II. Über das Vorkommen von Physcion usw. (Wiener-Festschrift, p. 176.)
- , III. Beitrag zur Anatomie und zum Chemismus der Flechte Chrysothrix neltangere Mont. (Ber. d. Deutsch. bot. Ges. 1916, Bd. XXXIV, p. 592.)
- , IV. Beitr. z. Mikrochemie einiger Anthrachinone (Ztschr. d. allg. ost. Apoth.-Ver. 1914, p. 165.)
- Spieß, K. v., I. Über die Farbstoffe des Aleurons (Österr. bot. Ztschr. 1904, Nr. 12.)
- Stahl, E., I. Die Schutzmittel der Flechten gegen Tierfraß (Festschr. f. Haeckel Jena 1901, p. 357.)
- Strecke, E., I. Das Vorkommen des Scutellans bei den Labiaten und seine Beziehungen zum Lichte. (Sitzungsber. d. Kais. Akad. d. Wiss. in Wien 1909, Bd. CXVIII, p. 1379.)
- Tammes, T., I. Über die Verbreitung des Carotins im Pflanzenreiche (Flora 1900, p. 218.)
- Tieghem, Ph. van, I. Sur les canaux sécréteurs des plantes (Annal. d. scienc. nat. 7 sér. t. 1, 1885, p. 79—80.)
- Thörner, W., I. Über einen in einer Agaricusart vorkommenden chinonartigen Körper. (Ber. d. d. chem. Ges. 1878, p. 533, und 1879, p. 1630.)
- Tschirch, A., und Polacco, I. Archiv d. Pharm. 1900, Bd. CCXXXVIII, p. 473.
- und Hiepe, H. Ebenda p. 432.
- , III. Untersuchungen über das Chlorophyll. 1884.
- Tswett, M., I. Spektralanalytische Untersuchungen über die Chlorophylline usw. (Ber. d. deutsch. bot. Ges. 1907, p. 137.)

- Tswett, M., II. Über den makro- und mikrochemischen Nachweis des Carotins. (Ebenda 1911, Bd. XXIX, p. 690.)
- , III. Das Chloroglobin. (Bot. Zbl. 1900, Bd. LXXXI, p. 83.)
- , IV. Kritische Bemerkungen zu Molischs Arbeit usw. (Bot. Ztg. 1905, Abt. II, p. 273.)
- Tunmann, O., I. Zur Anatomie des Holzes und der Wurzel von *Morinda citrifolia* usw. (Pharm. Zentralhalle 1908, p. 1013.)
- , II. Kleine Beiträge zur Pflanzenmikrochemie. (Ebenda, 1912, Jg. 53, No. 42, p. 1178.)
- , III. Beiträge zur angewandten Pflanzenmikrochemie. (Gehe u. Comp., Handelsbericht 1911, p. 155.)
- , IV. Zur Mikrochemie des Gentisins u. der gelben Farbstoffe von *Fraxus carolinensis*. (Apotheker-Ztg. Berlin, 1916, p. 181.)
- , V. Über den Nachweis des Crocetins. (Apotheker-Ztg. 1916, p. 237.)
- Verschaffelt, E., I. Une réaction permettant de déceler l'indol dans les parfums des fleurs. (Recueil des Travaux Botaniques Néerlandais 1904, Bd. I, p. 120.)
- Vogl, A. E. v., I. Unterirdische Pflanzenteile. (In Wiesners „Die Rohstoffe des Pflanzenreichs“, 2. Aufl., Bd. II, 1903.)
- Vogtherr, M., I. Über Alkanna und ihre Verwandten. (Pharm. Zentralhalle 1896, Jg. 37, p. 148.)
- Volkart, I. Untersuchungen über den Parasitismus der *Pedicularis*-Arten. Inaug.-Diss. Zürich 1899, p. 40.
- Wasicky, R., I. Zur Mikrochemie der Oxymethylantrachinone und über ein Anthraglykoside spaltendes Enzym im Rhabarber. (Ber. d. Deutsch. Bot. Ges., Bd. III, Jg. 1915, p. 37.)
- Wechnizen, F., I. Pharmaz. Weekblad 1908, XLV, p. 1325. (Zit. nach G. Zemplén in ABDERHALDENS Biochem. Handlexikon, Bd. IV, 2. Hälfte, p. 853.)
- , II. Über indoloide Däfte. Rec. des Trav. Bot. Néerl. 1911, Vol. VIII, p. 97.
- Weigert, L., I. Beiträge zur Chemie der roten Pflanzenfarbstoffe. (Jahresber. d. öhol. u. pomol. Lehranstalt z. Klosternenburg 1894/95.)
- Wiesner, J., I. Die Rohstoffe des Pflanzenreichs. Leipzig 1873, p. 614.
- , II. Untersuchungen über die Farbstoffe einiger für chlorophyllfrei gehaltenen Phanoogamen. (Jahrb. f. wiss. Bot. 1872, 8.)
- , III. Einige Beobachtungen über Gerb- und Farbstoffe der Blumenblätter. (Bot. Ztg. 1862, 20.)
- Wilschke, A., I. Über die Fluoreszenz der Chlorophyllkomponenten. (Zeitschr. f. wiss. Mikroskopie, Jg. 1914, Bd. XXXI, p. 338.)
- Willstätter, R., I. Chlorophyll. (In ABDERHALDENS Biochem. Handlexikon 1911, Bd. VI, p. 1.)
- , II. Untersuchungen über Chlorophyll. XVI. Über die ersten Umwandlungen des Chlorophylls. Von Willstätter und Utzinger. (Liebigs Annal. d. Chemie 1911, Bd. CCCXXXII, p. 135.)
- , III. Chlorophyll und seine wichtigsten Abbauprodukte. (Handb. d. biochem. Arbeitsmethoden 1910, Bd. II, p. 688.)
- und Meig, W., IV. Untersuchungen über Chlorophyll. IV. Über die gelben Begleiter des Chlorophylls. (Liebigs Annal. d. Chemie 1907, Bd. CCCIV, April.)
- und Stoll, A., V. Untersuchungen über Chlorophyll. Berlin 1913.
- , VI. Untersuchungen über Anthocyane. Liebigs Annalen der Chemie. 401 (1913), 404 (1915) und 412 (1917).
- , VII. Ber. d. deutsch. chem. Ges., Jg. 47 (1914), Heft 15, p. 2867.

- Wisselingh, C v., I. Über die Nachweisung u. das Vorkommen von Carotinoiden in der Pflanze. (Flora 1915, Bd. VII, N. F.)
- Zellner, J., I. Chemie der höheren Pilze. Leipzig 1907, p. 138.
- Zempton, G., I. In Abderhaldens Biochem. Handlexikon 1911, Bd. IV, 2. Hälfte, p. 844.
- Zimmermann, A., I. Die botanische Mikrotechnik. Tübingen 1892, p. 104.
- Zopf, W., I. Die Flechtenstoffe. Jena 1907.
- , II. Über Pilzfarbstoffe. (Bot. Ztg. 1889, Jg. 47, p. 69.)
- , III. Die Pilze. (In Schenks Handbuch d. Botan. Breslau 1890, Bd. IV, p. 424.)
- , IV. Über das mikrochemische Verhalten von Fettfarbstoffen usw. (Zeitschr. f. wiss. Mikroskopie 1889, Bd. VI, p. 172.)
- , V. Über das Polycystin, ein kristallisierendes Carotin aus Polycystis flos aquae Wittr. (Ber. d. deutsch. bot. Ges. 1900, Bd. XVIII, p. 461.)

## IX. Alkaloide.

### Allgemeines.

Unter Alkaloiden in weiterem Sinne versteht man die organischen Pflanzenbasen. Sie sind alle durch ihren Stickstoffgehalt ausgezeichnet und lassen sich in der Mehrzahl der Fälle vom Pyridin und Chinolin ableiten, in seltenen Fällen auch als Glieder der aliphatischen Reihe ansprechen. Als stickstoffhaltige Basen kann man die Alkaloide alle vom Ammoniak ableiten und demgemäß in primäre, sekundäre, tertiäre und quaternäre Basen unterscheiden. Die meisten sind fest, nur wenige, wie Conin, Nikotin flüssig, fast alle sind im Wasser schwer löslich oder unlöslich, in Alkohol leicht, in Chloroform, Äther, Benzol mehr oder weniger schwer löslich. Die Mehrzahl ist optisch aktiv, und zwar linksdrehend. Sie bilden mit Säuren leicht Salze, besonders gut kristallisierende mit Salz-, Schwefel- und Oxalsäure. Ihre Salze gehen mit verschiedenen Metallsalzen, z. B. mit Quecksilber-, Platin- und Goldchlorid, leicht Doppelverbindungen ein.

Die Alkaloide sind beinahe alle farblos. Gelb gefärbt sind Berberin, Sinapin und Harmalin und rot ist das Sanguinarin. Sie besitzen häufig einen bitteren und brennenden Geschmack, was vielleicht mit Rücksicht auf ihre ökologische Rolle von Bedeutung ist. Bezüglich des neuesten Standes der Alkaloidforschung vergleiche man besonders die Werke von PICTET-WOLFENSTEIN (I) und WINTERSTEIN-TRIER (I).

### Vorkommen.

Die Alkaloide sind besonders unter den Dikotylen sehr verbreitet, weniger unter den Monokotylen und Gymnospermen, noch seltener bei den Pteridophyten und Pilzen. Bei Algen und Moosen wurden sie überhaupt noch nicht konstatiert. Unter den Dikotylen zeichnen sich hauptsächlich folgende Familien durch ihren Reichtum an Alkaloiden aus: Apocynaceen, Asclepiadeen, Loganiaceen, Rubiaceen, Solanaceen, Papaveraceen, Fumariaceen, Leguminosen, Ranunculaceen, Berberideen, Menispermaceen usw. Manche Familien, die sich durch einen großen Gehalt an ätherischen Ölen auszeichnen, besitzen anscheinend keine Pflanzenbasen, z. B. die Labiata und Rosaceae. Über das Auftreten von Alkaloiden und systematische Verwandtschaft vergleiche man p. 12.

Die Alkaloide kommen in der Pflanze ihres ausgesprochen basischen Charakters wegen nicht frei, sondern gebunden an Säuren vor, gewöhnlich an Apfel-, Zitronen-, Bernstein-, Gerbsäure oder an spezielle Säuren, doch ist häufig nicht bestimmt zu sagen, an welche Säure die Base in der lebenden Zelle gekettet ist.

Bei vielen Pflanzen sind es besonders die Samen und Früchte (Piper, Strychnos, Colchicum, Coffea usw.), die Alkaloide führen. Bei anderen Dingen liegen die Basen vornehmlich in den Blättern (Solaneen, Erythroxylon Coca, Thea, Ilex usw.) oder in dem Wurzelstock (Hydrastis, Aconitum, Veratrum album) oder in den Rinden (Cinchona, Pynica usw.) oder in den Milchröhren (Papaveraceen).

Bezüglich der Samen fand CLAUTRIAU (II) folgendes: Bei Atropa Belladonna, Datura Stramonium liegt das Alkaloid in einer knapp unter der Samenschale liegenden Zellschicht, bei Conium maculatum in größerer Menge innerhalb der das Endosperm umgebenden Zellen, in geringerer Menge innerhalb der Fruchtschale. Bei Aconitum Napellus und Delphinium Staphisagria befindet sich das Alkaloid innerhalb des Endosperms, fehlt aber in der Samenschale und im Embryo. Bei Strychnos albus u. a. tritt es in allen Zellen des Endosperms und des Embryos auf, fehlt aber in dem den Samen bedeckenden Haarfilz. Bei Lupinus albus soll es vorwiegend in den Keimblättern, in geringer Menge auch in der Plumula vorhanden sein. Bei den Papaveraceen treten die Alkaloide im Milchsaft auf.

**Lokalisation.** Im allgemeinen kann man mit ERRERA (II, 186) sagen: Die Alkaloide treten besonders in sehr aktiven Geweben auf, so in der nächsten Nachbarschaft der Vegetationspunkte, in den Samenknospen, ferner in der Oberhaut und den darunter liegenden Schichten, in den Haaren, den peripheren Teilen der Früchte und Samen, im Umkreis der Gefäßbündel, im Phellogen, in den jüngsten Korkzellen und in den Milchröhren.

Die biologische Bedeutung der Alkaloide ist nur zum Teil erkannt. Im allgemeinen neigt man zur Anschauung, daß die Alkaloide und deren Salze wegen ihrer Giftigkeit und ihres brennenden und bitteren Geschmacks als Schutzmittel gegen Tierfraß eine Rolle spielen. Es liegt auch die Frage nahe, ob die Basen nicht auch beim Auf- und Abbau der Proteinkörper beteiligt sind, doch herrschen darüber keine klaren Ansichten. CLAUTRIAU (I, II) findet, daß das Verschwinden der Alkaloide in den Pflanzen niemals von einer gleichzeitigen Vermehrung der Eiweißsubstanzen begleitet ist, daß hingegen auf eine Verminderung der Proteinkörper eine Vermehrung der Alkaloide folgt. Das im Samen von Coffea gespeicherte Alkaloid verschwindet im Gegensatz zu HECKER nach CLAUTRIAU im Verlaufe der Keimung nicht und nützt nicht der jungen Pflanze. Hingegen schließt WEEVERS (I) aus seinen Versuchen, daß das Koffein und Theobromin bei der Eiweißdissimilation infolge sekundärer Prozesse gebildet, kürzere oder längere Zeit gespeichert und dann wieder zur Eiweißsynthese benützt wird. Daraus geht natürlich nicht hervor, daß sich andere Alkaloide auch so verhalten und erst wenn bezüglich mehrerer Alkaloide ausgedehnte Stoffwechselversuche vorliegen werden, wird es möglich sein, die Rolle der Pflanzenbasen im Stoffwechsel der Pflanzen richtig zu beurteilen.

#### Der mikrochemische Nachweis.

Aus wässriger oder saurer Lösung werden die Alkaloide durch eine Reihe von Substanzen, die man als Alkaloidgruppenreagen-

tien bezeichnet, gefällt. Dazu gehören Jodjodkaliumlösung, Phosphormolybdänsäure, Kaliumquecksilberjodid, Pikrinsäure, Tannin, Sublimat, Platinchlorid, Natriummolybdat und Schwefelsäure (FRÖHDE'S Reagens) u. a. Es braucht wohl nicht erst betont zu werden, daß aus einer Fällung im Gewebe nicht ohne weiteres auf ein Alkaloid geschlossen werden darf, und ich kann diesbezüglich nur wiederholen, was ich schon vor Jahren gesagt habe: „Es ist zu bedenken, daß von den genannten Körpern nicht nur Alkaloide, sondern eine ganze Reihe anderer Körper gleichfalls gefällt werden. So gibt beispielsweise die Phosphorwolframsäure auch Fällungen mit Gallusgerbsäure, Farbstoffen, Betaïn, leim- und peptonartigen Körpern, Methylamin, Trimethylamin, Ammoniaksalzen, Xanthinkörpern, gewissen Stoffen des Harns (Kynuronsäure, Kreatinin); offenbar ist damit die Reihe von fällbaren Körpern noch nicht abgeschlossen. Ähnliches gilt von den anderen allgemeinen Alkaloidreagentien. ERRERA, der mit Hilfe von Spezialreaktionen den Sitz einiger Alkaloide in den Pflanzen ausfindig machte und hierdurch einen wichtigen Beitrag zur Mikrochemie schuf, versuchte dort, wo Spezialreaktionen fehlten (z. B. beim Nikotin), das Alkaloid mit Hilfe der allgemeinen Reaktionen nachzuweisen. Das Ungenügende dieser Methode erkennend, machte er später selbst (I) darauf aufmerksam, daß auch die Mehrzahl der Eiweißkörper durch die allgemeinen Alkaloidreagentien gefällt werden. Um nun zu entscheiden, ob eine Fällung von einem Alkaloid oder einen Proteinkörper herrühre, nimmt er darauf Bedacht, daß die Alkaloide in mit Weinsäure angesäuertem Alkohol löslich sind, die Eiweißkörper aber nicht. Gibt ein dickerer Pflanzenschnitt nach der Auslaugung in Alkohol, z. B. mit Phosphormolybdänsäure, eine Fällung, so rühre sie von Eiweiß her, entsteht der Niederschlag aber nur vor der Auslaugung, so rühre er von einem Alkaloid her. Dieser Schluß scheint mir aber nur unter der Annahme zulässig, daß durch die allgemeinen Alkaloidreagentien nur Alkaloide und Proteinkörper gefällt werden, eine Voraussetzung, die aber nach dem oben Gesagten und nach den Angaben ERRERAS selbst nicht zutrifft“ (MOLISEN I, 15).

Da nun für recht viele Alkaloide vorläufig Spezialreaktionen fehlen, so wird man unter den nötigen Vorsichten mit den Gruppenreagentien sich behelfen müssen, und wenn die verschiedenen Reaktionen gleichsinnige Resultate geben und man überdies die von ERRERA empfohlene Vorsicht (Entzug des Alkaloids durch Alkohol) anwendet, wird man auch den Gruppenreaktionen bis zu einem gewissen Grade vertrauenerweckende Ergebnisse abgewinnen können, jedoch immer unter der Voraussetzung, daß die mikrochemische Untersuchung durch die makrochemische gestützt wird. Mit Hilfe der Gruppenreagentien haben ERRERA und seine Schüler (LAUTRIAU, JACQUEMIN (I), MAISTRIAU, MOLLE (I) und WILDEMAN (I) usw. bei zahlreichen Pflanzen den Sitz und die Verteilung der Alkaloide untersucht und dabei wertvolle Ergebnisse erzielt.

Es empfiehlt sich, sowohl unveränderte Schnitte als auch solche, denen das Alkaloid entzogen wurde, nebeneinander vergleichend zu prüfen. Um die letzteren zu erhalten, lege man sie für mehrere Stunden bis 2 Tage in mit Weinsäure angesäuerten Alkohol (1:20)

und dann zur Entfernung der Säure und des Alkohols für einen Tag ins Wasser (BARTH I, 229).

Als das beste Reagens, als „réactif par excellence“ bezeichneten ERRERA, MAISTRIAU und CLAUTRIAU (I, 152) das

Jodjodkalium (J 1, JK 1,  $H_2O$  100). Die Lösung gibt mit Alkaloiden einen rotbraunen Niederschlag, der sich in unterschwefligsaurem Natron löst.

Über die Bereitung der anderen Reagentien macht BARTH (I, 261) folgende Angaben:

Kaliumwismutjodid. Wismutjodid wird in warmer konzentrierter Lösung von Jodkalium in Wasser gelöst und die Flüssigkeit dann mit noch einmal soviel Jodkaliumlösung versetzt, als vorher dazu notwendig war.

Kaliumquecksilberjodid ( $HgCl_2$  13, KJ 49,  $H_2O$  1000) gibt mit Alkaloiden einen weißen oder gelblichen flockigen Niederschlag.

Tannin gibt in 10proz. Lösung mit A. dunkelbraune Fällungen.

Pikrinsäure (1:10) fällt A. in saurer Lösung teils amorph, teils kristallinisch.

Platinchlorid (1:10) gibt in schwach angesäuerter Lösung meist schwer lösliche kristallinische Doppelsalze.

Quecksilberchlorid (1:20) in wässriger Lösung gibt mit vielem A. einen weißen, oft kristallinischen Niederschlag. BARTH (I, 263) verwendete mit Vorteil auch Goldchlorid und konzentriertes Bromwasser.

Abgesehen von den Gruppenalkaloidreaktionen haben wir in den Spezialreaktionen einzelner Alkaloide und in der neuerdings stark gepflegten Mikrosublimation wertvolle Mittel, den mikrochemischen Nachweis sicherer zu gestalten, obwohl es auch hier noch manche Schwierigkeit zu überwinden gibt.

Die Mikrosublimation der Alkaloide direkt aus dem Gewebe ist für Koffein von NESTLER (I) ausgeführt worden und EDER (I) hat gezeigt, daß zahlreiche Alkaloide sich gut sublimieren lassen, allerdings aus reinen Präparaten, und es wird notwendig sein, seine Versuche erst auf die Gewebe der Pflanze auszudehnen. Wichtig für den mikrochemischen Nachweis sind die Vorschläge von BEHRENS (I, 46) zur Abscheidung der Alkaloide in Form kristallinischer Niederschläge, die von POZZI-ESSOT (I) und ebenso die von GRUTTERING (I), die eine Reihe von sehr charakteristischen Fällungsreaktionen für Alkaloide bekannt gemacht haben. Leider arbeiteten sowohl BEHRENS wie GRUTTERING nur mit Lösungstropfen, so daß auch ihre Ergebnisse erst dem mikrochemischen Nachweis in der Pflanze angepaßt werden müssen. Dasselbe gilt von den durch TUNMANN (III, IV) beschriebenen Reaktionen mit Spartein, Strychnin, Morphin, Papaverin, Kryptopin, Codein, Atropin und Hyoscyamin.

Nach diesen mehr allgemeinen Bemerkungen soll im folgenden gezeigt werden, welche Alkaloide bisher mikrochemisch in den Geweben nachgewiesen worden sind.

### Spezielles.

#### 1. Coniin, $C_8H_{17}N$ .

##### Vorkommen.

Im Kraute und besonders in den Samen von *Conium maculatum*.

**Eigenschaften.** Im reinen Zustande eine farblose, fast geruchlose Flüssigkeit. Schwer löslich in kaltem, noch schwerer in heißem Wasser, leicht löslich in Alkohol und verdünnten Säuren, reagiert alkalisch, raucht bei Annäherung starker Salzsäure, oxydiert sich an der Luft unter Braunfärbung, sehr giftig. Konzentrierte Schwefelsäure färbt blutrot, dann grün.

Der mikrochemische Nachweis wurde fast nur mit Gruppenreaktionen geführt (ANEMA I, 8; CLAUTRIAU II, 269; TSCHIRSCH und OESTERLE I, 160; BARTH I, 292). Die Ergebnisse der Forscher stimmen nicht ganz überein. Daß das Alkaloid in der Fruchtwand vorkommt, darf als sicher gelten. Hingegen behauptet CLAUTRIAU (II, 271), daß es sich auch in großer Menge in den das Albumen umgebenden Zellen findet, während BARTH (I, 296) sagt, daß das Endosperm und der Embryo alkaloidfrei ist.

#### 2. Piperin, $C_{17}H_{19}NO_3$ .

##### Vorkommen.

In den Früchten von *Piper nigrum*, *P. longum*, *Cubeba* (Juss. Miq., *Chavica officinalis* Miq., *C. Roxburghi* Miq. und vielleicht noch in anderen verwandten Arten.

**Eigenschaften.** Piperin kristallisiert aus heißem Weingeist in farblosen Prismen. Bei 100° schmelzen sie zu einer gelblichen, öligen Masse, die beim Erkalten amorph erstarrt. Es löst sich in Alkohol, Äther, Benzol und Petroläther, in Wasser ist es fast unlöslich. Der mikrochemische Nachweis kann in schwarzem Pfeffer in folgender Weise geführt werden<sup>1)</sup> (MOLLICH I, 27).

1. Das Piperin kann direkt unterm Mikroskop zur Anschauung gebracht werden, indem man zarte Schnitte auf den Objektträger legt, mit dem Deckglas zerdrückt und etwas zerreibt. Dabei tritt das ätherische Öl aus den gelben Zellen heraus, verdunstet, selbst während das Deckglas auf dem Schnitt liegt, teilweise und läßt hierbei das Alkaloid in zahlreichen winzigen, kurzen Kristallnadelchen herausfallen. Diese zeigen die Eigenschaften des Piperins.

2. Noch größere Kristalle scheßen in den Präparaten, und zwar innerhalb der gelben Zellen oder in deren Umgebung an, wofür dünne Schnitte in Wasser oder Glycerin unter Deckglas eingelegt und dann (bei Verwendung von Wasser) in feuchtem Raume mehrere Stunden oder Tage aufbewahrt werden. Schnitte, die unter Deckglas in Wasser gedrückt und zerrieben werden, lassen schon innerhalb der ersten Viertelstunde die Piperinkristalle erkennen.

1) Zur Orientierung sei bemerkt, daß das Nargewebe (Perisperm) der Pfefferfrucht der Hauptmasse nach aus polygonalen Stärkeparenchymzellen besteht, zwischen denen ähnlich geformte gelbe Zellen, die Harzpiperinzellen, liegen, so genannt, weil sie Harz und Piperin enthalten.



3. Geht schon aus den vorhergehenden Beobachtungen ziemlich sicher hervor, daß das Piperin im Perisperm ausschließlich in den gelben Zellen seinen Sitz hat, so folgt dies noch bestimmter aus folgender Tatsache. Das Piperin löst sich in konzentrierter Schwefelsäure mit rubinroter oder tiefblutroter Farbe. Werden Piperinkristalle mit konzentrierter Schwefelsäure auf dem Objektträger behandelt, so entsteht sofort um sie ein safran- oder tiefblutroter Hof, kurze Zeit darauf geht die Farbe allmählich in Purpur, Grünlichgelb und schließlich in Braun über. Auf Zusatz von Wasser verschwindet die Farbe sofort. Diese Reaktion läßt sich sehr gut mikroskopisch verwerten.

4. Ein Schnitt durch das Nährgewebe des Pfeffers mit konzentrierter Schwefelsäure betupft, färbt sich genau so wie Piperin, nämlich tief blutrot, und zwar färben sich nur die gelben Zellen. Diese und nur diese führen also neben dem Weichharz auch das Piperin (MOLISCH I, 81).

5. Wird ein Schnitt unter Deckglas mit Essigester versehen, so bildet sich am Deckglasrande ein gelbe Zone, in der ziemlich große, flache, monokline, sternförmig gelagerte Prismen des Piperins auftreten. Im Polarisationsmikroskop leuchten sie farbig auf (TUNMANN).

### 3. Die Alkaloide der Solanaceen.

#### a) Nikotin, $C_{10}H_{14}N_2$ .

##### Vorkommen.

In den Organen verschiedener *Nicotiana*-Arten

Eigenschaften. Das Nikotin stellt in reinem Zustande, frisch bereitet, eine farblose ölige Flüssigkeit dar, die nicht nach Tabak riecht und einen brennenden Geschmack besitzt. Sehr giftig und hygroskopisch. An der Luft infolge von Sauerstoffaufnahme verharzend. Mischt sich in allen Verhältnissen mit Wasser, Alkohol und Äther.

Der mikrochemische Nachweis stützt sich bloß auf Gruppenreaktionen (ERRERA, MAISTRIAU, CLAUTRIAU I, 161). Das Alkaloid findet sich bei *Nicotiana macrophylla* in der Wurzel, im Stamm und Blatt. In mehr oder minder großer Menge in der Oberhaut, den Haaren, im Parenchym, in bedeutenden Quantitäten in jungen Organen und besonders im Vegetationspunkt. MOLLE (I, 327) untersuchte *N. Tabacum* und fand es gleichfalls in allen Organen. Nikotin fand sich auch in der Blütenregion, reichlich in den Placenten und den Samenknospen, aus denen es bei der Samenbildung verschwindet.

Nach DE TONI (I) fehlt das Nikotin im Samen und der jungen Keimpflanze. Es findet sich lokalisiert in der Rinde der älteren Wurzel, besonders in den subepidermalen Zellen, ferner in den Epidermiszellen des Stammes, in den Basalzellen der Drüsenhaare, im Blattstiel, in der Blattspreite, im Kelch, der Blumenkrone, in der Oberhaut des Griffels und in den Narbenhaaren.

#### β) Atropin, $C_{17}H_{23}NO_2$ .

##### Vorkommen.

In *Atropa Belladonna*, *Datura Stramonium* und *Scopolia japonica*.

Eigenschaften. Bildet den Kern der meisten Solanaceen-alkaloide. Leicht löslich in Alkohol und Chloroform, schwer löslich in kaltem Wasser. Kristallisiert aus Alkohol und Chloroform in farblosen Prismen. Gelöst schmeckt es scharf und bitter. Es ist sehr giftig und verdankt seine medizinische Anwendung der Eigenschaft die Pupille zu erweitern.

#### Mikrochemischer Nachweis.

Atropa Belladonna. Nach WÉVRE (I) entsteht mit Jodjodkalium in den Zellen ein brauner Niederschlag, nach einiger Zeit bilden sich sogar sternförmige Kristallisationen von metallischem Aussehen. Ausführliche Untersuchungen verdanken wir MOLLE (I, 306), aber auch sie basieren nur auf der Verwendung einiger Alkaloidgruppenreaktionen, hauptsächlich des Jodjodkalium. Das Alkaloid wurde auf diese Weise in Wurzel, Stamm, Blatt, Blüte, Samen und der Frucht nachgewiesen. Speziell der Same wurde von ANEMA (II) und CLAUTRIAU (II) auf Atropin untersucht. Der letztere fand das Alkaloid ausschließlich in einer zwischen dem Integument und dem Albumen liegenden Schicht, hingegen niemals im Albumen und Embryo. Dies wurde von SIIM JENSEN (I) und FELDHAUS (I) bestätigt. Die von BEHRENS (I, 57) angegebenen mikrochemischen Reaktionen auf Atropin werden vielleicht auch in der Pflanze verwendbar sein, sie müssen aber erst für diesen Zweck ausprobiert werden. — Datura Stramonium. In dieser Pflanze wurden von LADENBURG zwei Alkaloide nachgewiesen: Atropin und hauptsächlich Hyoscyamin. Arbeitet man daher mit den allgemeinen Reagentien (MOLLE I, 352), so kann man mit einiger Wahrscheinlichkeit auf Alkaloide überhaupt schließen, aber nicht auf ein bestimmtes. Dasselbe gilt für Scopolia, wo auch mehrere Basen vorkommen.

#### γ) Hyoscyamin, $C_{17}H_{23}NO_3$ .

##### Vorkommen.

In *Hyoscyamus niger*, *H. muticus*, im Samen von *Datura Stramonium* und in der *Mandragora*-Wurzel.

Eigenschaften. Ahnelt sehr dem Atropin und läßt sich in dieses leicht überführen, Hyoscyamin kristallisiert aus Alkohol in Nadeln, schmeckt scharf und erweitert gleichfalls die Pupille.

Der mikrochemische Nachweis (MOLLE I, 315) wurde mit Gruppenreaktionen geführt. Das Alkaloid findet sich im Stamm, Blatt, in den Haaren und im Samen.

#### δ) Solanin, $C_{52}H_{93}NO_{11} - 4\frac{1}{2}H_2O$ .

Die Formel dieser glykosidischen Base ist noch nicht sicher.

##### Vorkommen.

Das Solanin wurde nachgewiesen in den Früchten von *Solanum nigrum*, *S. Dulcamara*, *S. verbascifolium*, *S. tuberosum*, in den jungen Trieben der Kartoffelknollen, in den Stengeln und Blättern von *Solanum Lycopersicum* und anderen *Solanum*-Arten und schließlich auch in anderen Solanaceen-Gattungen.

Eigenschaften. Solanin kristallisiert aus Weingeist in kleinen, perlmutterartig glänzenden, weißen, rechtwinklig-vierseitigen Prismen.

Es ist löslich in Wasser, verdünntem Alkohol und heißem Amylalkohol, fast unlöslich in Benzin. In einem warmen Gemisch von gleichen Volumina konzentrierter Schwefelsäure und Alkohol löst es sich mit roter Farbe. Mit dieser warmen Mischung wird ein Solaninkristall selbst hellgrün, die umgebende Flüssigkeit aber hellrosa. Bei der hydrolytischen Spaltung liefert Solanin Solanidin, Galaktose, Rhamnose und wahrscheinlich vor diesen einen komplexen Zucker (WITTMANN).

#### Nachweis.

Zum mikrochemischen Nachweis wurden zahlreiche Reaktionen empfohlen. WOTTSCHALL (I) hat die verschiedenen Vorschläge [DRAGENDORFF, SCHAAERSCHMIDT (I) usw.] überprüft und bezeichnet schließlich folgende drei Proben als empfehlenswert:

1. Vanadinsaures Ammonium in Schwefelsäuretrihydrat ( $\text{H}_2\text{SO}_4 = \text{H}_2\text{SO}_4 + 2\text{H}_2\text{O}$ ). Man löst 1 Teil vanadinsaures Ammonium ( $\text{NH}_4\text{VO}_3$ ) in 1000 Teilen eines Gemisches von 98 Teilen konzentrierter Schwefelsäure und 36 Teilen Wasser. Das Reagens ist frisch bereitet zu verwenden. Solaninhaltige Schnitte werden der Reihe nach gelb, orange, purpurrot, bräunlichrot, karmin-, himbeerrot, violett, blauviolett, blaßgrau und schließlich entfärbt. Der Farbentübergang dauert gewöhnlich einige Stunden, er kann aber auch rascher oder langsamer (24 Stunden) verlaufen. (Grenze der Empfindlichkeit 0,01 mg.)

Bekanntlich können fette Öle mit konzentrierter Schwefelsäure ähnliche Färbungen geben. Um sich vor Täuschungen zu bewahren, entfette man die Schnitte vorher mit Äther. Dasselbe gilt auch von der Reaktion 3. Man beachte auch Verwechslungen mit Anthocyan und die RASPAILSCHE Reaktion mit Eiweiß!

2. Selensaures Natrium, gelöst in Schwefelsäure, verwendete zuerst BRANDT (I). Das Reagens besteht aus 0,3 g  $\text{Na}_2\text{SeO}_4$  und einer Mischung von 8 cem Wasser und 6 cem reiner konzentrierter Schwefelsäure. Diese Lösung ist lange haltbar. Man setzt zu dem Schnitte einen Tropfen des Reagens und erwärmt über einer kleinen Flamme, den Objektträger hin- und herziehend, vorsichtig, bis eben der Beginn der Färbung sich einstellt. In diesem Augenblicke wird die Erwärmung sofort unterbrochen. Es entwickelt sich dann der Reihe nach eine himbeer-, johannisbeerrote und eine bräunlichgelbe Färbung, die schließlich vollständig verschwindet. Die Grenze der Empfindlichkeit liegt bei 0,025 mg. Die Reaktion ist zwar weniger empfindlich wie die MANDELINSCHE, aber sie hat den Vorteil, daß sie die Verwendung einer verdünnten Schwefelsäure gestattet, wodurch das Gewebe weniger gestört wird.

3. Schwefelsäure. Solaninhaltige Präparate färben sich mit reiner konzentrierter Schwefelsäure zuerst hellgelb, dann rötlich, schwach violett, grau und werden schließlich entfärbt. Leider wird bei dieser Reaktion das Gewebe vollständig zerstört. Dies und das mögliche Auftreten der RASPAILSCHE Reaktion infolge von Eiweiß bilden die Schattenseiten dieser Probe. Abgesehen davon leisten die drei Reaktionen gute Dienste, insbesondere die Reaktion 1.

Ein günstiges Objekt für den mikrochemischen Nachweis des Solanins sind kurze etiolierte Kartoffeltriebe, Beeren von *Solanum nigrum* und *S. Dulcamara*. Nach WOTITSCHALL (I, 190) findet sich bei den Kartoffeltrieben viel Solanin im Vegetationspunkte des Stengels und an Stellen, wo sich die Knospen und Wurzeln bilden. Im Stengel enthalten die epi- und subepidermalen Zellen die Hauptmenge des Solanins, gegen die Mitte des Stengels nimmt der Solaningehalt ab. Auch bei den Stengeln von *Solanum Dulcamara* war in der Peripherie der Rinde das meiste Solanin vorhanden. Das Solanin kommt in der lebenden Zelle stets gelöst vor. Ob es, wie WOTITSCHALL meint, auch in der Zellhaut vorkommt, ist wohl schwer zu sagen, da ja die geschilderten Solaninreaktionen zu den diffusen gehören und weit davon entfernt sind, das Alkaloid an Ort und Stelle anzuzeigen.

ALBO (I) suchte auf mikrochemischem Wege durch Untersuchung von Kartoffeltrieben, Keimlingen von *Capsicum annuum* und *Solanum*-arten die Rolle zu ermitteln, die dem Solanin in der Pflanze zukommt. Das Solanin ließ sich in den Kotylen, dem Hypokotyl nahe der Spitze und in den Stengeln nachweisen. Er schreibt dem Alkaloid eine ernährungsphysiologische Rolle zu.

Eingehende Untersuchungen über die Verteilung des Solanin in der Kartoffelpflanze machte MOLLE (I, 318), jedoch hauptsächlich nur auf Grund der allgemeinen Alkaloidreaktionen.

MOLLE (I) hat bei der Untersuchung der Solaneen *Nicandra physaloides*, *Petunia violacea*, *Physalis Alkekengi*, *Salpiglossis sinuata* und *Brufelsia americana* mit den allgemeinen Alkaloidreagentien Niederschläge erhalten und glaubt daraus auf die Anwesenheit von Alkaloiden schließen zu dürfen. Da aber bisher aus diesen Pflanzen Alkaloide noch nicht dargestellt worden sind, so gehe ich nicht näher darauf ein.

Allgemeines über die Verteilung der Alkaloide bei den Solaneen. Die Alkaloide finden sich in großer Menge in den oberirdischen Vegetationspunkten und ihrer nächsten Umgebung und nehmen von hier aus ab.

Im Stamme tritt das Alkaloid in der Epidermis auf und dann in zwei Schichten, die den Gefäßbündelring außen und innen begrenzen. Häufig verschwindet — *Solanum Dulcamara* bildet eine Ausnahme — das Alkaloid in einiger Entfernung vom Vegetationspunkt und verbleibt im Hautgewebe. In den Blättern lokalisiert es sich in der Epidermis und in der Nähe der Siebröhren.

Die Wurzel führt die Alkaloide reichlich in der Wurzelhaube, in der wurzelhaaretragenden Schicht und in den äußeren Reihen des Periblems. In der alten Wurzel finden sich Alkaloide im Rindenparenchym und in den jungen Elementen des Korkes.

Die Blütenorgane verhalten sich bezüglich der Alkaloidverteilung wie die Blätter. Die Karpelle und Samenknochen enthalten oft viel davon, und bei der Reife verschwindet ein Teil aus der Fruchthaut und dem Samen. Die reifen Samen führen zuweilen Alkaloide in ihren Hüllen, hingegen bleiben Albumen und Embryo stets frei davon (MOLLE I, 332).

#### 4. Cocain (Methyl-Benzoylcegonin), $C_{17}H_{21}NO_4$ .

In Erythroxyton coca und verwandten Arten dieser Gattung finden sich neben dem Hauptalkaloid Cocain noch andere Basen: Tropamethyl-, Cinnamylcocain, Benzoylcegonin, Hygrin, Cuskygrin,  $\alpha$ - und  $\beta$ -Truxillin.

**Eigenschaften.** Bildet monokline 4—6seitige Prismen, die einen Schmelzpunkt von  $98^\circ$  haben, in Wasser mäßig, in Alkohol leicht und auch in einem Gemisch von Benzol und Chloroform, Ässigäther, Petroläther und Anilin löslich sind. Der Geschmack ist bitter, danach stellt sich aber Geschmack- und Gefühllosigkeit ein. Das Cocain ist das richtigste Lokalanästhetikum, denn es lähmt in hervorragender Weise die sensiblen Nervenendigungen.

Der Nachweis im Gewebe ist bis zu einem gewissen Grade gelungen.

a) Abspaltung von Benzoesäure. Bereits TSCHIRCH (I) hat bei der Mikrosublimation feine Nadelchen erhalten und diese vermuthungsweise als Benzoesäure hingestellt. Jüngst haben sich WASICKY (II) und BRANDSTETTER mit der Sache beschäftigt und gezeigt, daß die erwähnten Kristallbeschläge tatsächlich aus Benzoesäure bestehen. Das Auftreten der Benzoesäure beruht darauf, daß das Cocain als Egonin aufgefaßt werden kann, an das ein Methylester und eine Benzoylgruppe angelagert ist. Schon durch Kochen mit Wasser wird Cocain in Methylalkohol und Benzoylcegonin gespalten und bei der Hydrolyse mit Säuren wird Benzoylcegonin weiter zerlegt in Egonin und Benzoesäure. Diese Tatsache wurde bereits von WASICKY (II) dazu verwendet, um reines Cocain durch Mikrosublimation nachzuweisen und BRANDSTETTER (I) benützte das Auftreten der Benzoesäure in den Sublimationsbeschlägen zum Nachweis des Cocains im Gewebe.

Blattgewebestücke werden auf dem Objektträger im Glasring mit konzentrierter Schwefelsäure behandelt und mäßig erwärmt. Die entstehenden Beschläge werden mit Chloroform oder Alkohol gelöst, worauf nach dem Verdampfen des Lösungsmittels die charakteristischen Benzoesäurekristalle auftreten. Der Nachweis dieser Säure gelingt durch Hinzufügen von Silbernitratlösung und eine Spur Ammoniak. Es entstehen dann geißelförmige Kristalle von Silberbenzoat.

b) Die von MEYER (I) angegebene Reaktion, daß Cocain mit Chromsäure in Verbindung mit konzentrierter Salzsäure nadelförmige Kristalle liefert, wurde von BRANDSTETTER (I) auch für Gewebeschnitte mit Erfolg verwendet. Grobe Schnitte der Blätter werden zuerst mit einer Spur Salzsäurealkohol betupft; nach Abdunsten des Alkohols wird eine 5%ige Chromsäurelösung und eine Spur Salzsäure beigelegt und mit dem Deckglas bedeckt. Nach 1 Stunde kristallisieren dann außerhalb des Gewebes feine Nadeln heraus, die nach einiger Zeit deformiert werden und sich im überschüssigen Reagens wieder lösen.

Mit Hilfe dieser beiden Reaktionen (a und b) konnte gezeigt werden, daß die Hauptmasse des Alkaloids sich im Grundgewebe des Blattes befindet. Im Blattstiel findet es sich auch vor, desgleichen in der Rinde des Stammes, aber nicht im Holz, Kork und der Wurzel. Untersucht wurden von BRANDSTETTER Glashauspflanzen in Wien; ob

aber die Verhältnisse auch für die unter natürlichen Bedingungen lebenden Bäume gelten, läßt sich nicht ohne weiteres sagen.

### 5. Die Alkaloide der Leguminosen.

Bei den Leguminosen wurden bereits eine Reihe von Alkaloiden makrochemisch festgestellt: das Pithecolobin, Cytisin, Anagyrin, Lupinin, Lupanin, Spartein und Physostigmin. Mikrochemisch wurden sie hauptsächlich von JACQUEMIN (I) geprüft und dabei unter anderen folgende Pflanzen untersucht: *Pithecolobium Saman* Benth., *Sophora tomentosa*, *Anagyris foetida*, *Thermopsis fabacea*, *Baptisia australis*, *Lupinus*-Arten, *Spartium juncum*, *Cytisus*-Arten und *Physostigma venenosum*. Es wurde die Lokalisation der Alkaloide durch die allgemeinen Reaktionen von JACQUEMIN (I) eruiert und überdies die Anwesenheit von Alkaloiden bei *Genista canariensis*, *Cytisus Atlcanus*, *Erythrina viarum* und *E. insignis* wahrscheinlich gemacht. Als Beispiel sei hier angeführt das

#### Cytisin, $C_{11}H_{14}N_2O$ .

##### Vorkommen.

*Cytisus*-, *Ulex*-, *Genista*-, *Sophora*-, *Baptisia*- und *Euchresta*-Arten.

**Eigenschaften.** Cytisin kristallisiert aus Alkohol in Prismen und sublimiert im Vakuum. Löst sich in Wasser und Chloroform sehr leicht, hingegen sehr wenig in Äther und Benzol. Es reagiert stark alkalisch, schmeckt bitter, ätzend und ist giftig.

##### Nachweis.

Mikrochemisch wurde es zuerst von ROSOL (II, 22), GUÉRIN (I) und eingehend von JACQUEMIN (I, 282) hauptsächlich in *Cytisus Laburnum* verfolgt und mit Hilfe der Gruppenreaktionen in allen Organen (Wurzel, Stamm, Blatt, Blüte, Frucht, Samenknospe und Samen) nachgewiesen.

Bezüglich der Lokalisation der Alkaloide bei den Leguminosen hat sich im allgemeinen eine ziemlich Übereinstimmung bei den einzelnen Gattungen und Arten ergeben. Die Verteilung der Alkaloide in der Pflanze ähnelt auch sehr der bei den Solaneen.

Die Alkaloide treten in allen Organen auf. Reich daran erwiesen sich die Epidermis, das Parenchym und das Mark. Das meiste Alkaloid enthielten gewöhnlich die Kotyledonen, gar keines die Samenhüllen. Viel Alkaloid bergen die Vegetationspunkte, die Knospen, allgemein gesprochen, diejenigen Organe, die den Sitz einer großen Lebensenergie darstellen (JACQUEMIN I, 297).

### 6. Die Alkaloide der Papaveraceen.

Eine wahre Fundgrube für Alkaloide sind die Milchsäfte der Papaveraceen. Im Opium, dem eingetrockneten Milchsafte unreifer Kapseln von *Papaver somniferum* hat man bereits 21 genauer studierte Pflanzenbasen nachgewiesen. Aber gerade dieser Umstand, das häufige Nebeneinandervorkommen zahlreicher Alkaloide in ein und derselben Pflanze oder Zelle erschwert den mikrochemischen Nachweis eines bestimmten

Alkaloids, weil ja durch die allgemeinen Alkaloid-Reagentien alle Basen gefällt werden und gewisse Spezialfarbenreaktionen wegen der entsprechenden Mischfarben versagen. Man wird sich daher in den meisten Fällen vorläufig damit begnügen müssen, nicht spezielle Alkaloide, sondern Alkaloide überhaupt in der Zelle nachweisen zu können. Es seien zunächst die von mir mit verschiedenen Milchsäften seinerzeit ausgeführten Untersuchungen angeführt (MOLLSCH II, 71).

*Chelidonium majus* L. In dieser Pflanze hat man mehrere Alkaloide festgestellt: Chelerythrin, Chelidonin, Sanguinarin, Protopin und Homochelidonin. Es war bis vor kurzem unbekannt, wo diese Alkaloide ihren Sitz haben. Bedenkt man, daß die Opiumalkaloide aus dem Milchsaft der Mohnpflanze gewonnen werden, so ist die Annahme naheliegend, daß auch die Alkaloide des Schöllkrautes oder wenigstens ein oder das andere im Milchsaft lokalisiert erscheinen. Chelerythrin, Chelidonin und Sanguinarin geben mit Salzsäure sehr leicht kristallisierbare Salze. Daher versuchte ich, mit Salzsäure den Sitz dieser Basen direkt in dem ausfließenden Saft und innerhalb der Milchröhren nachzuweisen. Wenn man einen Tropfen des frischen Milchsaftes mit einem Tropfen konzentrierter Salzsäure zusammenbringt, so schießt alsbald eine Unzahl von Kristallen an: Nadeln und feinnadelige Sterne oder Doppelnadelbüschel, im auffallenden Lichte von blutroter, im durchfallenden von orangeroter Farbe. Neben diesen treten gleichfalls in sehr großer Zahl warzige Sphärite, Prismen, einzeln oder zu mehr oder minder deutlich ausgebildeten Drusen vereint, auf. Alle diese sind im Gegensatz zu den erstgenannten Kristallen farblos. Darunter gibt es allerdings auch solche, die teilweise farblos, teilweise orange erscheinen, vielleicht weil zwei Verbindungen hier zusammen auskristallisieren. Endlich finden sich auch auffallend große, klumpige, farblose Drusen von runder, abgerundet viereckiger oder unregelmäßiger Form. Sehr schöne Kristallisationen erhält man auch, wenn man ein Tröpfchen des Wurzelmilchsaftes auf einem Objektträger über dem offenen Hals einer Salzsäureflasche einige Minuten liegen und dann nach dem Wegnehmen etwas eindunsten läßt. Der frisch austretende Milchsaft der Wurzel ist dunkelorange, der der Blätter eigelb. An der Luft wird er alsbald dunkler, schließlich siegellackrot. Entsprechend der helleren Farbe des Blattmilchsaftes sind auch die farbigen, mit Salzsäure erhaltenen Kristalle viel heller gelb als die entsprechenden des Wurzelmilchsaftes.

Ganz ähnliche Kristallisationen wie mit Salzsäure werden erhalten mit mäßig oder ganz konzentrierter Schwefelsäure oder Salpetersäure, wobei offenbar die entsprechenden Salze der Alkaloide entstehen.

Werden frische Radialschnitte durch die Wurzel mit 10proz. Salzsäure behandelt, so wird der orangerote Milchsaft größtenteils in Kristalle von orangeroter oder gelbbrauner Farbe derselben Art umgewandelt wie die eben beschriebenen. Die Kristalle entstehen nur in den Milchröhren oder da, wo der Milchsaft sich aus aufgeschnittenen Röhren über die Umgebung ergossen hat. Zumeist entstehen Nadeln, Sterne oder Prismen, und zwar in so großer Menge, daß nunmehr der Verlauf der Milchröhren durch kontinuierliche Züge von Kristallen angedeutet wird (Fig. 97).

Die unter den beschriebenen Verhältnissen entstehenden Kristalle dürften wohl von den genannten Alkaloiden herrühren. Wir sind zwar

bei dem derzeitigen Mangel an passenden mikrochemischen Unterscheidungsmitteln zwischen den Chelidoniumalkaloiden heute außerstande zu sagen, welche von den Kristallen diesem oder jenem Alkaloid angehören, aber aus den geschilderten und noch zu erwähnenden Befunden dürfte es erlaubt sein, den Schluß abzuleiten, daß die Alkaloide von Chelidonium in dem Milchröhrensystem größtenteils oder völlig lokalisiert sind und daß sie hier in Form einer ungemein konzentrierten Lösung und in großer Menge vorkommen.

Beiläufig sei erwähnt, daß der Milchsafte mit Jodchloralhydrat am Rande des Milchsafte tropfens unter Deckglas nadel-, stern-, garben- oder eisblumenartige Kristallaggregate erscheinen läßt, die sich vorübergehend tiefblaugrün, hinterher aber braun färben. Mit den reinen Alkaloiden (Sanguinarin, Chelerythrin, Chelidonin) erhielt ich diese Farbenreaktion nicht, weshalb ich denn auch über den die Reaktion hervorrufenden Körper nichts zu sagen vermag.

*Sanguinaria canadensis* L. In dem knollig verdickten Wurzelstock hat man bekanntlich gleichfalls mehrere Alkaloide festgestellt: Chelerythrin, Sanguinarin, Homochelidonin und Protopin. Als ich im Frühjahr zur Zeit des Austreibens Schnitte durch das Rhizom mit 10proz. Salzsäure behandelte, entstanden in den durch ihren blutroten Milchsafte ausgezeichneten Milchröhren zahlreiche Nadelsterne von braunroter Farbe, und zwar innerhalb der Milchsaftebehälter. Es ist bekannt, daß die als Chelerythrin und Sanguinarin bezeichneten Alkaloide sich von sämtlichen, bisher isolierten Papaveraceenbasen durch ihre intensiv gefärbten Salze unterscheiden. So besitzen die Salze des an sich farblosen Chelerythrins eine gelbe, die der farblosen Base Sanguinarins eine intensiv rote Farbe. Daher wird es verständlich, warum die stark gefärbten wässerigen Lösungen der Chelerythrin- und Sanguinarinsalze bei Behandlung mit Ammoniak unter Abscheidung eines weißen flockigen Niederschlags vollständig entfärbt werden. So wird auch begreiflich, warum der Milchröhreninhalt von *Sanguinaria* und *Chelidonium* infolge von Ammoniak ziemlich verblaßt oder entfärbt und die Farbe durch Salzsäure wieder restituiert wird. Dasselbe gilt auch für die gefärbten Salze der beiden genannten Basen. Aus dem Gesagten erhellt mit Wahrscheinlichkeit, daß die bei Chelidonium und Sanguinaria mit Salzsäure im Milchsafte oder in den Milchröhren erhaltenen gefärbten Kristalle entweder dem Chelerythrin oder dem Sanguinarin oder beiden angehören.

*Boconia cordata* Willd. Die in der Wurzel vorhandenen zahlreichen, zumeist recht kurzen Milchzellen enthalten orangeroten Milchsafte. Auch hier läßt sich ein großer Teil des Milchsafte mit 10proz. Salzsäure in orangerote Kristalle umwandeln. Es entstehen



Fig. 97

Milchröhren aus der Wurzelrinde von *Chelidonium majus* L. Nach Behandlung mit 10proz. Salzsäure fallen Alkaloide in den Milchröhren in Form von Kristallen oder Kristallaggregaten aus.

Vergr. etwa 150



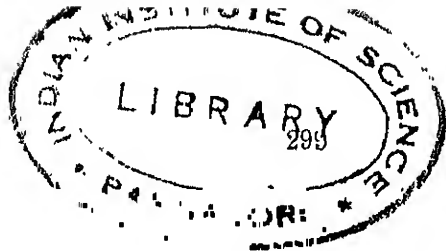
entweder zahlreiche Nadelchen oder Nadelsterne; nicht selten verwandelt sich der größte Teil des Milchsafte mit 10proz. Salzsäure in strahlige Sphärite. Der Nachweis gelingt in Schnitten nicht immer, dagegen sicher im Milchsaft junger Blätter. Ein Tröpfchen des dunkelroten Milchsafte, einige Minuten über den Hals einer Salzsäureflasche gehalten, liefert fast einen Brei von Tausenden von orangeroten Nadeln, sternartigen Nadelaggregaten und Doppelpinseln. Da in *Bocconia frutescens* Chelerythrin nachgewiesen wurde und da die mit *Bocconia* erhaltenen Kristalle sich so verhalten wie die entsprechenden von *Chelidonium* und *Sanguinaria*, so dürften die gewonnenen Kristalle bei *Bocconia* dem salzsauren Chelerythrin angehören.

*Eschscholtzia californica* Cham. In derselben Weise wie bei *Chelidonium* entsteht in den Wurzelmilchröhren auf Zusatz von Salzsäure alsbald ein Niederschlag von orangeroten Kristallen, und da in *Eschscholtzia* Chelerythrin nachgewiesen wurde, so dürfte wohl anzunehmen sein, daß diese Kristalle aus salzsaurem Chelerythrin bestehen.

*Argemone mexicana* L. Der eigelbe, an der Luft rasch nachdunkelnde Milchsaft gibt mit mäßig konzentrierter Schwefelsäure oder Salpetersäure unter Deckglas eine Unmenge von gelben Kristallen, die zumeist Nadeln, Prismen oder Aggregate von solchen darstellen. Das Verhalten des Milchsafte den Alkaloidgruppenreaktionen gegenüber, durch welche reichlich Fällungen hervorgerufen werden, sowie der Umstand, daß auch hier unter denselben Umständen wie bei früher behandelten Papaveraceen gelbe Kristalle entstehen, machen es wahrscheinlich, daß auch diese Kristalle einem Alkaloid angehören.

Papaver-Arten. Der Milchsaft, insbesondere der aus den unreifen Früchten von *Papaver somniferum* ist bekanntlich ein Reservoir der verschiedensten Alkaloide. Über ein Drittel des Opiums besteht aus kristallisierten Stoffen, darunter prävaliert als der wichtigste therapeutische Körper das Morphin, das rund 5 bis 13% ausmachen kann. Bei dieser Sachlage darf es nicht wundernehmen, daß bei der direkten Behandlung des frischen Milchsafte mit verschiedenen Stoffen oft reichlich Kristalle entstehen. So bildete sich bei Behandlung des Milchsafte von *Papaver orientale* L. und *P. somniferum* mit mäßig oder ganz konzentrierter Salzsäure oder Schwefelsäure eine große Menge von farblosen prismatischen, spießigen oder sternartigen Kristallaggregaten einer mir unbekannten Substanz. Interessant ist auch, daß bei Einwirkung von Salpetersäure der Milchsaft von *Papaver orientale* L. (jedoch nicht der von *P. somniferum*) sofort eine dunkelviolett-purpurne Färbung annimmt, die alsbald in Braun übergeht. Von welchem Körper diese auffallende Reaktion ausgeht, vermag ich derzeit nicht zu sagen.

Über die Alkaloide von *Papaver somniferum* verdanken wir mikrochemische Untersuchungen CLAUTRIAU (II). Im allgemeinen wurden Gruppenreaktionen angewendet, in einzelnen Fällen auch Spezialreaktionen. Mit Hilfe der letzteren läßt sich nach CLAUTRIAU Morphin sicher, Narkotin mit Wahrscheinlichkeit nachweisen, hingegen bleibt der Nachweis von Thebain, Papaverin, Codein und Narcein unsicher. Auf die Anwesenheit des Morphin glaubt CLAUTRIAU aus der Tatsache schließen zu dürfen, daß der Milchsaft mit den allgemeinen Reagentien Fällungen gibt, Jodsäure reduziert, sich mit einer Lösung



von Titansäure in Schwefelsäure (2:100)  
von Methylal in Schwefelsäure (5 Tropfen  
säure) intensiv violett färbt. Die Anwesen-  
(Genannte für wahrscheinlich, weil eine Lösung von kohlensaurem Natron  
in Schwefelsäure den Milchsafte rotorange färbt, wie dies von Ge-  
mischen von Morphin und Narkotin bekannt ist.

Die Alkaloide finden sich bei *Papaver somniferum* nach CLAUTRIAU  
nicht bloß im Milchsafte, sondern auch in der Epidermis, besonders  
der der Frucht. Gegen die Basis der Pflanze nimmt der Alkaloid-  
gehalt ab, die Wurzelepidermis erscheint frei davon. Die Alkaloide  
fehlen den Samen und jungen Pflanzen, sobald diese aber eine Länge  
von 10 bis 15 cm erreicht haben, treten sie auf. Sodann nimmt der  
Alkaloidgehalt zu, bis zur Sommerreife, wo er ein Maximum erreicht.  
Beim Absterben der Pflanze und dem Trockenwerden der Frucht ver-  
schwinden die Alkaloide (CLAUTRIAU III).

Aus meinen Untersuchungen über den Milchsafte der Papaveraceen  
geht hervor, daß nicht bloß bei *Papaver somniferum* der Milchsafte den  
Hauptsitz von Alkaloiden bildet, sondern daß der Milchsafte aller  
geprüften Papaveraceen (*Chelidonium*, *Sanguinaria*, *Bocconia*,  
*Argemone*, *Eschscholtzia*) ein Reservoir für zumeist giftige  
Pflanzenbasen darstellt und daß diese hier in relativ so  
konzentrierter Lösung vorkommen, daß sie sich, ent-  
sprechend behandelt, leicht in Form deutlich kristalli-  
sierter Salze nachweisen lassen (MOLISCH II, 77)

#### 7. Die Alkaloide von *Corydalis*.

Aus den Knollen der *Corydalis cava* wurden bereits sechs  
Alkaloide dargestellt, unter denen der Menge nach das Corydalin über-  
wiegt.

##### Corydalin, $C_{22}H_{27}NO_4$ .

Kristallisiert aus Alkohol in sechseckigen Prismen. Es ist in  
Wasser und Alkalien unlöslich, ziemlich löslich in Äther, Chloroform  
und Benzol.

ZORF (I) und HEINRICHER (I) haben seinerzeit nachgewiesen, daß  
die Vertreter der Familie der Fumariaceen in ihren Organen Idioblasten  
enthalten, deren Inhalt anfangs nicht recht erkannt wurde. Es sind  
dies meist mehr oder minder langgestreckte Zellen von etwa 2–10 mm  
Länge, mit farblosem, gelbem oder rotem Inhalt. In der Knolle von  
*Corydalis cava* sind sie kurz, fast isodiametrisch und haben einen gelben  
homogenen Inhalt (Fig. 98). ZORF hielt die Schlauchzellen zuerst für  
Gerbstoffbehälter, HEINRICHER erklärte diese Bezeichnung mit gutem  
Grunde für nicht berechtigt, da die Behälter meist Gerbstoff gar nicht  
führen und erblickte den charakteristischen Bestandteil in fettem Öl.  
Endlich wurden sie von ZORF (II) als Alkaloidbehälter an-  
gesprochen. Er zeigte, daß der gelbe Inhalt der Idioblasten von  
*Corydalis cava* durch Ammoniak und durch die allgemeinen Alkaloid-  
reagentien gefällt wird. Obwohl die Fällungen nicht bloß in den Idio-  
blasten, sondern auch in den übrigen Gewebeelementen eintreten, so  
entsteht der Hauptniederschlag doch in den Schlauchzellen, und deshalb  
schließt ZORF, daß hauptsächlich diese das Corydalin enthalten. Ich

möchte sagen, Alkaloid oder Alkaloide enthalten, da es ja zum mindesten sechs Alkaloide in *Corydalis cava* gibt und wir vorläufig nicht wissen, von welchem Alkaloid oder Alkaloiden die Färbung herrührt. Wenn die Idioblasten von *Corydalis cava* wirklich Alkaloidbehälter sind, so ist es in hohem Grade wahrscheinlich, daß auch die Idioblasten der anderen *Corydalis*-Arten und *Fumariaceen* (*Fumaria*, *Dicelytra*, *Adlumia* usw.) Alkaloide fñhren, und es wäre eine dankbare Aufgabe, diese makro- und mikrochemisch anzugehen.

Nach den Untersuchungen von ZOFF (II, 117) enthalten die Idioblasten von *Corydalis cava* neben dem Alkaloid auch noch gefärbte Harzsäuren, wasserlösliche gefärbte Stoffe, Fett und Zucker.

### 8. Die Alkaloide der Rubiaceen.

Die Rinden der drei Gattungen *Cinchona*, *Ladenbergia* und *Remija* enthalten eine große Zahl von Alkaloiden, von denen als die wichtigsten nur das Chinin ( $C_{10}H_{24}N_2O_2$ ), Cinchonin, Cinchonidin und Cinchotin genannt seien.

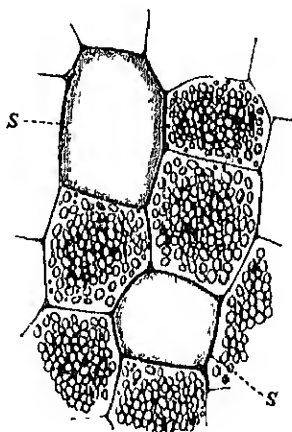


Fig. 98.

*Corydalis cava*.  
Parenchym aus der Knolle  
mit Stärkezellen und zwei  
Idioblasten s. Vergr. 250.

Mikrochemisch wurden die Alkaloide in *Cinchona* hauptsächlich von LORSY (I, II) untersucht und auf Grund der allgemeinen Reaktionen, namentlich der Jodjodkaliumlösung erhielt er folgende Resultate. Die Epidermis der Blätter führt keine Alkaloide, das chlorophyllfreie Hypodermis aber sehr viel. Unentwickelte Blätter enthalten im Mesophyll kein Alkaloid, entwickelte hingegen im ganzen Mesophyll reichlich. Zellen, die Calciumoxalat enthalten, sind frei davon. Das Alkaloid findet sich im allgemeinen im jungen Gewebe des Vegetationspunktes im Zellsaft gelöst vor, im älteren Gewebe, z. B. in der sekundären Rinde, tritt es in amorphem, festem Zustande auf. Die Siebröhren enthalten kein Alkaloid.

Ob die Alkaloide durch die von BEHRENS (I, 91) angegebenen Reaktionen und durch Mikrosublimation direkt im Gewebe mikrochemisch nachweisbar sind, muß erst

untersucht werden.

### Emetin und Cephaelin.

Diese beiden Alkaloide kommen in der officinellen Brechwurzel von *Cephaelis Ipekakuanha* vor.

**Emetin**,  $C_{30}H_{40}N_2O_5$ . Weißes amorphes Pulver von bitterem, kratzendem Geschmack, löst sich leicht in Benzol, Chloroform, Methyl- und Äthylalkohol, Äther, Petroläther, schwer in Wasser.

**Cephaelin**,  $C_{25}H_{40}N_2O_4$ . Kristallisiert aus Äther in feinen, weißen Nadeln. Ist sehr unbeständig und färbt sich bald gelb.

**Mikrosublimation.** TUNMANN (I, 166) benutzt etwa 0,05 g Pulver der Wurzel, verreibt es mit zwei kleinen Tropfen Wassers auf einer Glasplatte flach zu einem Brei in Größe eines Pfennigstückes.

Es werden mehrere Sublimate aufgefangen, die bei höherer Temperatur (58—115°) gewonnenen enthalten die beiden Alkaloide. Neben braunen Teerprodukten zeigen sich 1. farblose bis schwach gelbliche Tröpfchen mit Einschlüssen von noch stärkerer Lichtbrechung, und 2. zahlreiche dunkelbraune Körnchen. Die hellgelblichen Sublimationströpfchen enthalten das Cephaëlin. Sie geben mit allgemeinen Reagentien die entsprechenden Fällungen, beweisend aber für ihre Reaktion ist ihr Verhalten zu Molybdänschwefelsäure. Sie nehmen darin, wenn ich TUNMANN recht verstehe, für kurze Zeit eine tiefbraune, dann eine intensiv rote Farbe an, während die im Sublimat regellos verteilten dunklen Auscheidungen, die das Emotin enthalten, sich in dem genannten Reagens mit grüner Farbe lösen sollen. Der Nachweis der beiden Alkaloide in Schnitten bereitet Schwierigkeiten, ich verweise diesbezüglich auf die Arbeit von TUNMANN.

### 9. Die Alkaloide der Loganiaceen.

Hierher gehören das Brucin, Strychnin und mehrere Curare-Alkaloide.

#### a) Brucin, $C_{32}H_{26}N_2O_4$ .

##### Vorkommen.

Neben Strychnin in den Samen und in der Rinde von *Strychnos nux vomica* (falsche Angosturarinde) und in den Ignatiusbohnen, den Samen von *Strychnos Ignatii*.

Eigenschaften. Kristallisiert in wasserhellen monoklinen Prismen, perlmutterglänzenden Blättchen oder in blumenkohlähnlichen Massen, die an der Luft leicht verwittern. Schmeckt anhaltend sehr bitter und ist überaus giftig. In Wasser und Alkohol löst es sich leichter als das Strychnin. Mit Salpetersäure und verschiedenen anderen oxydierenden Mitteln nimmt die Base eine rote Färbung an, die beim Erwärmen in Gelb umschlägt. Diese Reaktion kann auch umgekehrt beim Nachweis der Salpetersäure angewendet werden, selbst wenn nur sehr wenig Nitrat vorhanden ist, wie im Trinkwasser (vgl. p. 90).

Mit dem mikrochemischen Nachweis des Brucins (und des Strychnins) haben sich bereits mehrere Forscher beschäftigt [LINDT (I), CLAUSTRIAU (II), ELESTRAND (I), TSCHIRCH-OESTERLE (I), GEROCK und SKIPARRI (I), BARTH (I), KLEIN (I) und WASICKY (I)], ohne daß in allen Punkten Klarheit gewonnen worden wäre. LINDT versuchte den Nachweis in folgender Weise zu führen:

Die Schnitte der *Strychnos*-Samen wurden zunächst durch Petroläther und Alkohol von Fett befreit und dann unterm Deckglas mit Selensäure, die mit etwas Salpetersäure versetzt wurde (5 Tropfen Selensäure von 1,4 spez. Gew. und 1 bis 2 Tropfen Salpetersäure von 1,2 spez. Gew.), behandelt. Es färben sich dann angeblich die Zellwände rasch hellrot, allmählich orange und gelb, während der Zellinhalt ungefärbt bleiben soll.

Das Ausziehen der Schnitte durch Petroläther und Alkohol ist nicht am Platze, da die Alkaloide dabei leicht mit in Lösung gehen, auch können sie bei der Extraktion in die Membranen eindringen, hier zurückbehalten werden und dann die Reaktion auch in der Membran hervorrufen. LINDTS Ansicht, daß das Brucin und Strychnin

in der Membran liege, ist auf Grund der Untersuchungen der oben genannten Forscher allgemein aufgegeben worden. Am eingehendsten hat sich mit dem Nachweis des Brucins BARRY (I, 374) beschäftigt. Er kam mit den Gruppenreaktionen und einigen auf p. 303 beschriebenen Farbenreaktionen zu dem Ergebnis, daß das Brucin im Inhalte aller Endospermzellen neben Strychnin und im Embryo allein vorhanden sei.

### β) Strychnin, $C_{21}H_{22}N_2O_2$ .

#### Vorkommen.

In den Ignatinsbohnen *Strychnos Ignatii* Bg., in den Brechnüssen oder Krähenaugen, d. h. den reifen Samen von *Strychnos nux vomica* und in dem Wurzelholze von *Strychnos colubrina*.

**Eigenschaften.** Kristallisiert aus Alkohol in kleinen rhombischen Prismen. Fast unlöslich in Wasser, schwer löslich in den gewöhnlichen organischen Lösungsmitteln. Es hat einen metallischen, sehr bitteren Geschmack und gehört zu den heftigsten Pflanzengiften.

**Mikrochemisch** versuchte LINDT (I) Strychnin nachzuweisen, indem er die Schnitte zunächst wiederholt mit Petroläther und absolutem Alkohol behandelte, um sie von Fett, Traubenzucker und Brucin zu befreien und dann mit einer Lösung von schwefelsaurem Ceroyd in Schwefelsäure versetzte. Es färben sich dann die Zellhäute mehr oder minder violettblau, der Zellinhalt bleibt vorläufig farblos. Dieser Zustand bleibt nur kurze Zeit erhalten, dann verschwindet die violette Färbung, und nun nimmt der Zellinhalt einen bläulich-rotvioletten Farbenton an, der aber auch mit Schwefelsäure allein eintritt und wohl auf die RASPATISCHE Zucker-Eiweiß-Reaktion zurückzuführen ist.

Wenn man in eine Lösung des Strychnins in Schwefelsäure ein einziges Körnchen von kristallisiertem Kaliumbichromat bringt, so entstehen in seiner Nähe blaue bis violette Streifen, die später in Grün übergehen können. Diese sehr empfindliche Reaktion läßt sich nach ROSOLL (II, 17) sehr gut verwerten, um das Strychnin direkt im Gewebe nachzuweisen. Werden Schnitte durch das Endosperm von *Strychnos* mit reiner konzentrierter Schwefelsäure behandelt, so tritt infolge des Eiweißgehaltes des Zellinhaltes zunächst eine roserote Färbung, die RASPATISCHE Reaktion, ein. Fügt man aber zu einem mit Schwefelsäure behandelten Schnitt ein Körnchen Kaliumbichromat hinzu, so färben sich schon nach wenigen Minuten sämtliche im Zellinhalte vorhandenen Öltröpfchen schön violett oder blauviolett. ROSOLL ist daher, im Gegensatz zu LINDT (I), der Ansicht, daß das Alkaloid in den *Strychnos*-Samen im Inhalte der Endospermzellen, und zwar in den Öltröpfchen aufgelöst vorkommt. Wenn LINDT angibt, daß das Alkaloid in der Membran und nicht im Zellinhalt liegt, so beruht dies auf irrtümlichen Beobachtungen. LINDT hat den Schnitt vor der Reaktion zur Beseitigung des Fettes mit Petroläther behandelt, dabei aber übersehen, daß das Alkaloid, obwohl es für sich in Petroläther unlöslich ist, durch Petroläther doch mit dem Öltropfen aufgenommen und dann von den Membranen zurückbehalten wird (ROSOLL II, 17).

GEROCK und SKIPARRI (I, 556) haben aber mit Recht darauf aufmerksam gemacht, daß gegen die Beweisführung ROSOLLS gewichtige Bedenken bestehen, weil er auch dieselben Farbenreaktionen mit den Samen von *Strychnos potatorum* erhalten hat, die bekanntlich gar kein Alkaloid enthalten. Das, was ROSOLL bei *Str. potatorum* für eine Strychninreaktion gehalten hat, ist wahrscheinlich gar nichts anderes als die RASPAIL'sche Reaktion gewesen, wie sie mit den alkaloidfreien, aber eiweißreichen Samen von *Elaeis* und *Phytolophas* ebenfalls erhalten wird.

GEROCK und SKIPARRI suchten daher die Lokalisation der Alkaloide in den Samen von *Strychnos* durch Kaliumquecksilberjodid zu bestimmen. Dünne Schnitte werden in eine Lösung davon eingelegt. Die alkaloidhaltigen Schnitte nehmen darin alsbald ein weißliches trübes Aussehen an, welches in dickeren Schnitten gelblich wird. Werden die Schnitte dann einige Male rasch abgewaschen und in Schwefelwasserstoffwasser gebracht, so nehmen sie hier eine braune bis schwarze Farbe an. Solche Präparate, in Glycerin eingelegt, lassen an der Schwarzfärbung leicht erkennen, daß die Alkaloide im Zellinhalte und nicht in den Wänden ihren Sitz haben.

BARTII bestätigte im wesentlichen diese Befunde. Er wendete die allgemeinen Reaktionen und hauptsächlich folgende Farbenreaktionen an:

Vanadinschwefelsäure färbt eine Lösung von Strychnin zuerst blauviolett; die Farbe geht bald in rotviolett über. Brucin färbt zuerst blutrot, hierauf geht die Farbe bald in orange-gelb über.

Konzentrierte Salpetersäure löst Strychnin farblos, Brucin aber mit blutroter Farbe.

Schnitte durch das Endosperm der Samen von *Strychnos nuxvomica* wurden mit Vanadinschwefelsäure violett. Der Embryo gibt nur die schwache Rotfärbung, die Schwefelsäure allein gibt.

Konzentrierte Salpetersäure färbt die Zellinhalte des Endosperms und des Embryo gleichmäßig orange, was auch in letzterem auf die Anwesenheit von Brucin schließen läßt. Nach BARTII (I, 406) ist im Zellinhalte aller Endospermzellen sowohl Strychnin als Brucin, nur das letztere aber im Keimling vorhanden. Über das Verhalten der Alkaloide während der Keimung vergleiche man TUNMANN (II).

WASICKY (I), dem wir eine kritische Überprüfung der verschiedenen in Vorschlag gebrachten Reagentien verdanken, hat besonders in der Pikrolonsäure ein sehr gutes Mittel zum Nachweis des Brucins und Strychnins gefunden.

Ein Tropfen der wässrigen, gesättigten Pikrolonsäurelösung einem Tropfen wässriger Strychninatlösung (1:100) auf dem Objektträger zugesetzt, bewirkt einen kleinkörnigen Niederschlag, aus dem sogleich kleine, schlanke, doppelbrechende Nadeln aufschießen, die zu gelblichen Dentriten heranwachsen.

Mit Brucinsulfat entsteht unter den gleichen Umständen ein flockiger Niederschlag. Wird jedoch leicht erwärmt, so bilden sich gelb gefärbte, stark polarisierende Kristalle: Rosetten oder Sterne, die sich aus rhombischen oder deltoidähnlichen Tafeln aufbauen. Bringt man in einen Tropfen des wässrigen Reagens einen Schnitt aus dem *Strychnos*-Samen, so fallen nach leichtem Erwärmen ganz kleine Kristalle aus, die dem Brucin entsprechen. Erwärmt man stärker, so treten

aus Strychnin bestehende Sterne und Rosetten auf, die sich in auffallender Weise gerade an die Zellwände anlegen. WASICKY schließt sich gleichfalls der herrschenden Ansicht an, daß die beiden Alkaloide im Öplasma der Endospermzellen liegen.

#### 10. Die Alkaloide der Ranunculaceen.

Einige Ranunculaceen enthalten, wie aus mikro- und makrochemischen Untersuchungen hervorgeht, Alkaloid. Mikrochemisch wurden sie am eingehendsten von VANDERLINDEN (I) studiert. So enthält *Caltha palustris* ein Alkaloid, das man früher mit Unrecht als Nikotin erklärt hat und das noch nicht rein dargestellt ist. Aus der Gattung *Delphinium* hat man bereits mehrere Basen gewonnen, aus den Samen von *Delphinium Staphisagria* bereits vier, darunter das Delphinin  $C_{22}H_{35}NO_4$ . Von großer Wichtigkeit ist das Aconitin und seine Verwandten. Fast jede Aconitumart hat ihr spezifisches Alkaloid.

##### Aconitin, $C_{34}H_{47}NO_{11}$ .

###### Vorkommen.

In *Aconitum Napellus*, besonders in den Wurzelknollen.

**Eigenschaften.** Kristallisiert aus Alkohol in rhombischen Prismen und Tafeln, aus Chloroform in warzenförmigen Drusen. In Wasser fast unlöslich, schwer löslich in absolutem Alkohol und Benzol, leichter in Äther, unlöslich in Ligroin (J. SCHMIDT I, 402). Reagiert schwach alkalisch, schmeckt scharf und bitter und ist un-  
gemein giftig.

Der mikrochemische Nachweis in der Pflanze wurde fast nur mit Hilfe der allgemeinen Reagentien geführt. ERRERA, MAISTRIAT und CLAUTRIAU (I, 163) fand es in allen Teilen von *Aconitum Napellus*, und zwar immer im Zellinhalte. Die Hauptmenge liegt in den Vegetationspunkten und in den Fruchtknoten, eine bedeutende Menge ist auch in der Wurzel, in der Blüte und in den Samen. Im Stamme erscheint es in der Epidermis und im Umkreis der Gefäßbündel. ERRERA empfahl zum Nachweis des Aconitins auch Schwefelsäure. Aconitinhaltige Schnitte geben mit Schwefelsäure, die mit  $\frac{1}{2}$  Volum Wasser verdünnt wurde, besonders wenn man die Schnitte vorher mit Rohrzuckerlösung befeuchtet hat, eine rotviolette Färbung. Es ist aber meiner Meinung schwer, diese Reaktion von der RASPAIL'schen Eiweißreaktion zu unterscheiden. Später hat VANDERLINDEN (I) das Alkaloid auch bei *A. Lycoctonum* und *A. Anthora* mikrochemisch nachgewiesen und seine Lokalisation untersucht.

##### 11. Berberin, $C_{20}H_{17}NO_4$ .

###### Vorkommen.

Das Berberin ist dadurch unter den Alkaloiden ausgezeichnet, daß es nicht nur in verschiedenen Gattungen derselben Familie, sondern auch in verschiedenen Familien, die im Systeme weit auseinanderstehen, auftritt. Nämlich

Caesalpiniaceae: *Geoffroya jamaicensis*. Rinde.

Rutaceae: *Xanthoxylon clava Herculis* L. Rinde. *Toddalia aculeata*, *Evodia glauca* und *mollifolia*, *Orixa japonica*. Rinde.

Anonaceae: *Coelocline polycarpa*. Rinde.

Berberidaceae: *Berberis vulgaris* und andere *Berberis*-Arten, *Mahonia Aquifolium*, *Nandina domestica*, *Leontice thalioides*, *Podophyllum peltatum* (?), *Hydrastis canadensis*.

Menispermaceae: *Coscinium fenestratum*, *Chasmanthera cordifolia*.

Ranunculaceae: *Xanthorhiza apifolia* (Wurzel), *Coptis trifolia*.

Einzelne dieser Vorkommnisse werden noch zu überprüfen sein.

Eigenschaften. Berberin kristallisiert in gelbbraunen Nadeln oder feinen Prismen. Ist in kaltem Wasser, Chloroform und Benzol wenig, in heißem Wasser und in Alkohol leicht löslich, in Äther, Benzol und Ligroin schwer löslich. Mit Chloroform und Aceton bildet es kristallisierende Verbindungen. Berberin ist schwach basisch, wenig giftig und optisch inaktiv. Seine Salze sind gelb und schmecken bitter.

### Mikrochemischer Nachweis.

1. Fügt man zu einem Schnitt durch die Rinde einer mehrere Zentimeter dicken Wurzel von *Berberis vulgaris* verdünnte Salpetersäure (2 cem konzentrierte Salpetersäure auf 100 cem  $H_2O$ ), so entstehen nach wenigen Minuten überaus zahlreiche gelbe Nadeln, Nadelsterne oder Drusen von salpetersaurem Berberin (Fig. 99). Man kann die Schnitte direkt mit der Säure behandeln (ZIMMERMANN I, 117) oder vorher mit Alkohol benetzen (HERDMANN I). Die Behandlung mit Alkohol kann aber wegfallen. Die Kristalle entstehen in ungeheurer Menge im Zelllumen, auf den Wänden und außerhalb des Gewebes im Versuchstropfen. Schon im Jahre 1848 hat BODENCKER (1) mit Salpetersäure Berberin mikrochemisch nachgewiesen, eine der ersten mikrochemischen Analysen.

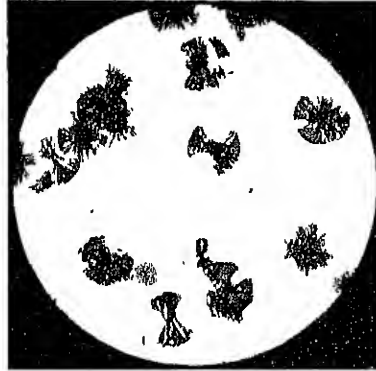


Fig. 99

Berberinnitrat-Kristalle, gewonnen durch Behandlung eines Schnittes durch die Wurzelrinde von *Berberis vulgaris* mit verd. Salpetersäure. Vergr. 180.

2. Anstatt der Salpetersäure kann man mit Vorteil verdünnte Schwefelsäure (1–2 proz.) oder verdünnte Salzsäure (1–2 proz.) verwenden, man erhält dann die entsprechenden Salze in ganz ähnlichen gelben Kristallformen wie mit Salpetersäure.

3. Jodtinktur. Schnitte durch den Stengel oder die Wurzel von *Berberis vulgaris*, mit nicht zu verdünnter Jodtinktur behandelt, bedecken sich fast momentan in der Rinde mit einer Unzahl brauner oder schwarzbrauner Kristallnadeln, Nadelsternen, Dendriten, Klümpchen oder Warzen, die ziemlich lokal auftreten, so daß man durch diese Reaktion sofort über den Hauptsitz des Alkaloids orientiert ist. Diese ausgezeichnete Probe ist bedeutend empfindlicher als die beiden vorhergehenden. ROSOLZ (I, 20) hat diese Reaktion in anderer Form angewendet. Er sagt: „Die weingeistige Lösung des Alkaloids scheidet



auf Zusatz von Jodjodkalium, wenn in geringer Menge zugefügt, sehr charakteristische, grüne, haarförmige Kristalle, im Überschuß gelbbraune Kristalle ab, die durch unterschwefligsaures Natrium wieder gelöst werden.“ Auch dieses Verfahren führt zu guten Resultaten, doch gebe ich der Verwendung der Jodtinktur den Vorzug, da man mit einem Reagens auskommt. Die gelbbraunen und die schwarzbraunen Kristalle erscheinen häufig in denselben Präparaten, doch überwiegen die letzteren bei Anwendung konzentrierter Jodlösungen.

4. Bromwasser gibt in den Zellen mit Berberin einen rötlichen amorphen Niederschlag (TUNMANN I, 178).

5. Aceton-Berberin. Im Anschluß an Versuche von GORDIN (I) hat BAUER (I) die Eigentümlichkeit des Berberins, mit Aceton in alkalischer Lösung eine kristallinische, in Alkalien unlösliche Acetonverbindung zu bilden, benutzt, um Berberin in Schnitten nachzuweisen. Schnitte werden nach BAUER in einigen Tropfen Wasser auf einen Objektträger gebracht, wenige Sekunden liegen gelassen, bis sich das Alkaloid gelöst hat, sodann 1 Tropfen 10proz. Natronlauge hinzugefügt, erwärmt und mit 4 bis 5 Tropfen Aceton versetzt. Es sollen dann die charakteristischen Aceton-Berberinkristalle in Form grünlichgelber, glänzender Schüppchen unterm Deckglas auftreten. Die Kristallbildung, die bald nach 5 Minuten, bald erst nach mehreren Stunden erscheint, kann dadurch beschleunigt werden, daß man erst nach Zusatz des Acetons erwärmt (BAUER I, 356).

Diese Reaktion gab mir gewöhnlich negative oder unsichere Resultate und kann sich mit den Reaktionen 1 bis 3 nicht im entferntesten an Empfindlichkeit und Brauchbarkeit messen.

Lokalisation. HERRMANN (I) hat mit Hilfe der Salpetersäurereaktion die Verteilung des Berberins in *Berberis vulgaris* verfolgt. Ich habe diese Versuche nachgeprüft, aber mit der Salpetersäurereaktion nur in älteren Wurzeln positive Resultate erhalten. Der 1- bis 2-jährige Stengel gab mir keine Berberinnitratkristalle, hingegen konnte ich mit Jodtinktur in jungen und alten Wurzeln, Stengeln, ja sogar in jungen austreibenden Blättern das Alkaloid sehr schön nachweisen. HERRMANN und ROSOLL geben richtig an, daß das Berberin als eine goldgelbe Flüssigkeit viele Rindenparenchym- und Kambiumzellen erfüllt. Hier ist das Berberin am reichlichsten vertreten. Die beiden genannten Forscher haben aus der Gelbfärbung der Bast- und Holzzellmembranen geschlossen, daß die Wände hier Berberin absorbiert hätten. Ich habe aber mit Holz allein keine positive Reaktion erhalten, so daß ich nicht die Überzeugung gewinnen konnte, daß die Gelbfärbung der Holzzellmembranen von Berberin herrührt. Ist in den Membranen Berberin wirklich vorhanden, dann müssen es nur sehr geringe Mengen sein, die sich mit den angeführten Reaktionen nicht mehr nachweisen lassen. HERRMANN konnte auch in *Jeffersonia diphylla* Berberin in Wurzeln und Blättern mikrochemisch feststellen, desgleichen in der Rinde der Colombowurzel, *Cocculus palmatus*, wo es auch von RUNDQUIST (I) nachgewiesen wurde. HERRMANN bediente sich dabei hauptsächlich des Schwefelammoniums, von dem das Alkaloid unter lebhafter Bräunung gefällt werden soll. Es wäre wünschenswert, wenn mit der ausgezeichneten Jodprobe die RUNDQUIST-HERRMANNschen Befunde und

auch andere überprüft würden, da das Vorkommen von Berberin in der Colombowurzel bestritten wird.

## 12. Hydrastin, $C_{21}H_{21}NO_6$ .

### Vorkommen.

Im Rhizom der kanadischen Gelbwurzel, *Hydrastis canadensis* neben anderen Alkaloiden (Berberin und Canadin).

**Eigenschaften.** Das Hydrastin kristallisiert aus der alkoholischen Lösung in rhombischen Prismen aus. Fast unlöslich in Wasser, leicht löslich in Chloroform und Benzol, schwer löslich in Äther und Alkohol. Reagiert alkalisch, ist wenig giftig.

Der mikrochemische Nachweis kann 1. nach den Erfahrungen von GRUTTERINK (II, 196) und besonders von TUNMANN (I) durch Sublimation erbracht werden. Etwas Hydrastispulver (0,05 g) wird mit etwas Wasser versetzt, zu einem Brei verrieben und auf einer Glasplatte flach gestrichen. Im Sublimat erscheinen gelbe homogene Massen und verschiedene Kristallformen. „Hier und da entstehen in den Tropfen feine Kristallnadeln, ferner charakteristisch ausgebildete Plättchen von prismatischer Natur, überwiegend kommt es aber zur Bildung von dendritischen Formen. Die Kristalle sind rein weiß (farblos), polarisieren gelb, die großen regenbogenfarbig. Die einzelnen Individuen sind kleine Stäbchen und Täfelchen, die, kleine Zwischenräume untereinander lassend, in Reihen perlschnurartig angeordnet sind. Die einzelnen Reihen und Strahlen wiederum sind zu ‚Sonnen‘ und büschelartigen Bildungen vereint“ (TUNMANN I, 173). Die erhaltenen Kristalle zeigen die Eigenschaften des reinen Hydrastins; sie lösen sich in Chloroform, Benzol und geben folgende Farbenreaktionen: konzentrierte Schwefelsäure löst farblos, Vanadinschwefelsäure orangefarben und Ammoniummolybdat-Schwefelsäure erst farblos, dann grünlich-blau, schließlich bleibend blau. Die gelben Sublimationsmassen bestehen aus Berberin, wie sich aus den Reaktionen mit Salpetersäure und Jod ergibt. Ist die Droge wenig gehaltreich, so lege man auf den Anflug ein Deckglas, füge Chloroform hinzu und lasse über Nacht liegen. Es treten dann stets rein weiße, bis 100  $\mu$  große Hydrastinkristalle auf, die in Regenbogenfarben oder gelb polarisieren (TUNMANN I, 176).

2. TUNMANN (I, 178) hat gefunden, daß man auch ohne Sublimation das Hydrastin aus der Droge in Kristallform zur Anschauung bringen kann, wenn man 0,01 g Pulver oder zwei kleine Schnitte mit verdünnter Salzsäure (1:10) durchfeuchtet, mit dem Deckglas bedeckt und Chloroform zusetzt. Schon nach 3–5 Minuten erscheint nach teilweiser Verdampfung des Chloroforms das Hydrastin in weißen Prismen um das Präparat herum. Am Deckglasrande finden sich gelbe Zonen von abgeschiedenem Berberin.

TUNMANN kommt zu dem Ergebnis, daß das Berberin bei Hydrastis nur im Zellinhalt auftritt und, entgegen der Ansicht von ROSOLL, die Membranen der Libriformfasern alkaloidfrei sind. Das Berberin ist bei Hydrastis ausschließlich im Parenchym lokalisiert. Am reichsten daran ist die primäre Rinde, weniger reich das Mark. Das Hydrastin tritt in denselben Parenchymzellen zusammen mit dem Berberin auf, doch ist die Lokalisation hier viel schwieriger aufzudecken.

da die Reaktionen viel undeutlicher sind. Die besten Resultate erhielt TUNMANN mit Ammoniummolybdat-Schwefelsäure und frischen Schnitten. Es bildet sich dann im Inhalte der Hydrastinzellen nach einigen Stunden ein lebhaft blaues Gerinnsel.

### 13. Colchicin, $C_{22}H_{25}NO_6$ (nach ZEISEL).

#### Vorkommen.

In den Blüten, den Blättern, der Frucht, hauptsächlich aber in den Knollen (0,2%) und Samen (0,4%) der Herbstzeitlose, *Colchicum autumnale*.

Eigenschaften. Bildet eine amorphe, hellgelbe, gummiartige Masse, löst sich leicht in kaltem Wasser, Alkohol und Chloroform, kaum in Äther; schmeckt bitter und ist giftig.

Mikrochemischer Nachweis. FERRERA, MAISTRIAU und CLAU-TRIAU (1) haben die Verteilung des Colchicins in der Pflanze durch allgemeine Gruppenreaktionen und vornehmlich durch folgende zwei Spezialreaktionen (a und b) untersucht.

a) Konzentrierte Schwefelsäure färbt Colchicin intensiv gelb.

b) Ein Tropfen Salpetersäure oder einer Kaliumnitratlösung zu einer Lösung von Colchicin in konzentrierter Schwefelsäure hinzugefügt, bewirkt eine braunviolette Färbung, die wieder rasch blaßgelb wird. Setzt man jetzt Kalilauge hinzu, so entsteht eine rote Färbung.

Beide Reaktionen gelingen auch mit Schnitten. Läßt man auf einen Querschnitt durch die heurige Knolle verdünnte Schwefelsäure (1 Schw., 2—3 W.) einwirken, so bemerkt man eine schöne Gelbfärbung in den Epidermiszellen und in denjenigen Zellen, die die Gefäßbündel unmittelbar umgeben. Die anderen Zellen bleiben ungefärbt. Schon wenn man die sich gelbfärbenden Zellen vor der Reaktion mit der Lupe betrachtet, bemerkt man an ihnen einen leichten gelbgrünen Stich, der an die Färbung einer wässrigen Colchicinlösung erinnert. Mit diesem Befund stimmen auch die anderen Reaktionen.

Lokalisation. Der blatttragende Stengel ist sehr reich an Colchicin in der Oberhaut und in der Umgebung der Gefäßbündel. Auch die Epidermis des Blattes führt viel Colchicin. Die Frucht enthält es in der Oberhaut und der Same im Endosperm. Diese von FERRERA und seinen Mitarbeitern gewonnenen Ergebnisse wurden aber bezüglich der Samen nicht bestätigt. BLAU (1) bestreitet die Anwesenheit des Colchicins im Samenkorn und bezeichnet die braune Samenschale als den alleinigen Sitz des Alkaloids im Samen. Dieser Befund verdient volle Beachtung, weil er auf mikro- und makrochemischem Wege gewonnen wurde. Künftige Untersuchungen werden darauf zu achten haben, ob die Samen reif oder unreif sind, denn es wäre möglich, daß sich dann Unterschiede in der Verteilung zeigen, da BARTZ (1) in unreifen Samen das Alkaloid der Hauptmenge nach in der Schale, in reifen Samen in der Schale und anscheinend in kleiner Menge im Öl des Embryo und des Endosperms nachgewiesen hat. Innerhalb der Schale ist das Colchicin nach BLAU auf die beiden innersten direkt an das Endosperm angrenzenden und mit diesem verwachsenen, tangential gestreckten Zellreihen (Pigmentschicht) beschränkt.

#### 14. Veratrumalkaloide.

Die Liliaceen *Veratrum Sabadilla* und *V. album* enthalten eine ganze Reihe von Alkaloiden (WINTERSTEIN-TRIER I). Die Samen von *V. Sabadilla*, die Sabadill Samen führen 1. das sogenannte „kristallisierte Veratrin“ oder Cevalin, 2. das „amorphe Veratrin“ oder Veratridin und 3. das Sabadillin oder Cevadillin. Diese drei Basen wurden früher als „Veratrin“ zusammengefaßt. Es gibt noch andere Basen darin, aber die sind weniger gut untersucht. Der Wurzelstock von *V. album* führt neben geringen Mengen von „Veratrin“ noch wenigstens fünf weitere Basen, die als Abbauprodukte des „Veratrins“ betrachtet werden können. Nämlich Jerverin, Rubijervin, Pseudojervin, Protoveratrin und Protoveratridin, wovon letztes aber wahrscheinlich in dem Rhizom nicht vorgobildet ist.

Das Protoveratrin  $C_{32}H_{51}NO_{11}$  ist der wirksame, sehr giftige Bestandteil der „weißen Nießwurz“ (*V. album*); kristallisiert in Täfelchen, ist fast in allen Lösungsmitteln schwer löslich. Relativ leicht löslich in Chloroform und heißem Alkohol. Reizt zum Nießen.

Mikrochemischer Nachweis. BORŠČOW (I, 38) hat versucht, das „Veratrin“ direkt im Gewebe von *Veratrum album* nachzuweisen, indem er Schnitte mit konzentrierter Schwefelsäure, der das doppelte Vol. Wasser zugesetzt war, behandelte. Eine Lösung von „Veratrin“ färbt sich mit Schwefelsäure gelb, dann rotorange (morgenrot) und schließlich violettrot. Diese Reaktion will nun der Genannte auch mit Schnitten erhalten haben, und zwar in der Wurzel (Epidermis und Schutzscheide), der Stengelachse und in den Zwiebelschuppen (Epidermis). Das meiste „Veratrin“ soll in den Zellhäuten vorhanden sein. Nach dem heutigen Stand unserer Kenntnisse wird man Borščows Befunde sehr skeptisch betrachten müssen, denn die violette Färbung mit Schwefelsäure ist leicht mit der RASPANschen Reaktion zu verwechseln und überdies war B. im Glauben, daß nur ein Alkaloid vorhanden sei, während wir heute wissen, daß das, was man früher unter Veratrin verstanden hat, ein Gemisch von Basen ist.

RUNDQUIST (I, 117) hat mit Phosphorwolframsäure und Ammoniummolybdat an frischem und trockenem Material den Sitz der Alkaloide zu erforschen sich bemüht und gefunden, daß in Präparaten aus Rhizom und Nebenwurzeln das Alkaloid nur in den starkeführenden Parenchymzellen zu finden ist und zwar besonders in denen, die an die alkaloidfreien Epidermiszellen stoßen. Die Elemente des Zentralzylinders und der Epidermis waren frei davon. Niemals enthielten die Membranen Alkaloid. Die Verteilung des Alkaloids in der Stengelachse ist ähnlich wie im Rhizom, doch ist hier die Menge viel geringer. Das wenigste Alkaloid enthalten nach Rundquist die Zwiebelschuppen und die Blätter.

#### 15. Die Alkaloide der Puringruppe

sind dadurch ausgezeichnet, daß ihre Stammsubstanz das Purin ist, eine nicht natürlich vorkommende Base, die aber von E. FISCHER aus der Harnsäure (2, 6, 8-Trioxypurin) dargestellt wurde. Es gehören hierher das Xanthin, Theobromin, Theophyllin, Kaffein, Hypoxanthin und Adenin.

Kaffein,  $C_8H_{10}N_4O_2$ .

## Vorkommen.

Interessant dadurch, daß es nur wenigen Pflanzengattungen eigentümlich ist, die sehr verschiedenen Pflanzenfamilien angehören.

Rubiaceae: *Coffea arabica*. Besonders im Samen.

Theaceae: *Thea chinensis*. Besonders im Blatt.

Sterculiaceae: *Stereulia acuminata* (Kolaniß). Besonders in der Frucht.  
*St. platanifolia*, *Theobroma Cacao*.

Sapindaceae: *Paullinia sorbilis*. Frucht.

Aquifoliaceae: *Ilex paraguayensis* und zahlreiche andere *Ilex*-Arten (Cador I), Paraguaythee oder Maté-Blätter.

Eigenschaften. Kann künstlich aus Harnsäure dargestellt werden. Ist Trimethylxanthin. Kristallisiert mit 1 Mol. Wasser in langen seidenglänzenden Nadeln. Schwer löslich in kaltem Wasser, leicht in heißem, in Chloroform und Benzol, schwer löslich in Alkohol und Äther. Die Lösung ist optisch inaktiv. Kaffein ist wenig bitter, schwach giftig und geruchlos.

## Mikrochemischer Nachweis.

1. Ein oder mehrere dünne Schnitte durch die Kaffeebohne werden auf dem Objektträger in ein Tröpfchen konzentrierte Salz-

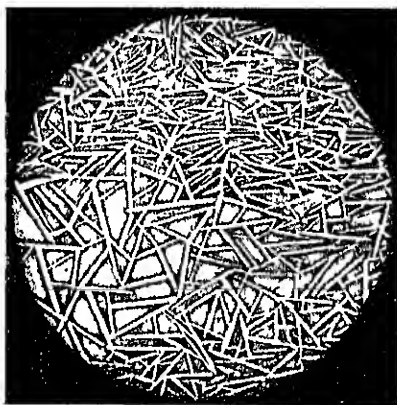


Fig 100

Kaffeinkristalle, gewonnen durch Mikrosublimation aus den Samen von *Coffea arabica*. Vergr. 180.

säure gelegt, nach etwa einer Minute ein Tröpfchen Goldchlorid (3proz., nicht mehr) hinzugefügt und dann unterm Mikroskop bei schwacher Vergrößerung eingestellt. Sobald ein Teil der Flüssigkeit verdampft ist, schießen am Rande des Tropfens mehr oder minder lange, gelbliche, zumeist büschelförmig ausstrahlende Nadeln von charakteristischem Aussehen an. Ganz dasselbe geschieht, wenn man einen Kaffeekristall in einem Tröpfchen Salzsäure löst und dann Goldchlorid hinzugibt. Bei Verwendung etwas konzentrierterer Kaffeelösungen

fallen sofort nadelartige Kristalle oder Kristallaggregate aus. Diese von mir (MOLISCH I, 7) eingeführte mikrochemische Reaktion wurde

seither von HANAUSEK (I), CADOR (I), NESTLER (I) und anderen vielfach mit Erfolg verwendet, doch ist darauf zu achten, daß die bei der Reaktion entstehenden Nadeln des chlorwasserstoffsäuren Kaffeegoldchlorids sehr feinspitze Enden besitzen und büschelig ausstrahlen. Sie dürfen, worauf HANAUSEK (I) aufmerksam gemacht hat, mit jenen Kristallen, die aus Goldchlorid und Salzsäure allein, also ohne Kaffein entstehen, nicht verwechselt werden, diese haben nie spitze Enden und zeigen nie büschelig ausstrahlende Nadeln, sondern

bestehen aus teils sehr kurzen, zickzackartig angeordneten, teils auffallend langen, zarten gelben Stäbchenprismen und aus Tafeln mit rechtwinkligen Vorsprüngen.

2. Ich lege einige Schnitte auf den Objektträger in einen Tropfen dest. Wassers, erwärme ihn eben bis zum Aufwallen und lasse den Rest bei gewöhnlicher Temperatur langsam verdampfen. Sieht man nun unterm Mikroskop nach, so gewahrt man von Kaffeeinkristallen nichts, offenbar deshalb, weil in dem etwas gelatinösen Extrakt die Kristallisation verhindert wird. Gibt man aber zu dem Rückstand ein Tröpfchen Benzol, so nimmt es das Kaffeein auf und läßt es beim Verdampfen am Rande des Tropfens zu Hunderten von Kristallen in Form farblosor Nadeln herausfallen. Diese zeigen alle Eigenschaften des Kaffeeins (MOLISCH I, 8).

3. NESTLER (I) zeigte, daß man durch Sublimation direkt aus dem Gewebe das Kaffeein gewinnen kann. Einige kleinere Schnitte durch eine intakte Kaffeebohne oder ein gerolltes Blattfragment künstlichen Tees von 1 cm Länge, das in der Reibschale verrieben wird, werden der Mikrosublimation unterworfen. Man erhält alsbald (5–15 Min.) Anflüge, die aus Hunderten von bis  $50\ \mu$  langen Nadeln bestehen (Fig. 100).

NESTLER hat das Sublimationsverfahren für alle kaffeeinhalten Genußmittel (Tee, Maté, Kaffee, Kola, Guarana) ausprobiert und es überall so verwendbar gefunden, daß es gegenwärtig in der Praxis, insbesondere bei der Untersuchung von den erwähnten Genußmitteln zu großem Ansehen gelangt ist.

Lokalisation. Alle erwähnten Kaffeeinproben haben aber, trotz ihrer Vorzüge, das Mißliche, daß sie den Sitz des Alkaloids im Gewebe nicht lokal anzeigen, und in dieser Beziehung haben auch die allgemeinen Reagentien versagt (CLAUTRIAU IV, 55; SUZUKI I).

Immerhin läßt sich sagen, daß die Kaffeebohne fast in allen Endospermzellen und die Kolanuß das meiste Alkaloid in den Parenchymzellen des Embryo führt.

### Theobromin, $C_7H_8N_4O_2$

#### Vorkommen

In den Samen und jungen Blättern der Sterculiaceen *Theobroma Cacao* und *Sterculia acuminata*

Eigenschaften. Theobromin ist Dimethylxanthin und kann leicht in Trimethylxanthin oder Kaffeein überführt werden. Kleine, farblose Kriställchen des rhombischen Systems, meist rechtwinklige Täfelchen, die zwischen  $290^\circ$  bis  $295^\circ$  sublimieren. Leicht löslich in heißem Wasser, Kalilauge und Ammoniak, schwer löslich in kaltem Wasser und Alkohol, etwas leichter in Chloroform und Amylalkohol, unlöslich in Äther.

Mikrochemischer Nachweis. Fügt man zu einem Theobrominkriställchen ein Tröpfchen konzentrierter Salzsäure und nach einiger Zeit ein ebenso großes Tröpfchen Goldchlorid, so treten, sobald ein Teil der Flüssigkeit verdampft ist, am Rande des Tropfens überall lange gelbe Nadeln auf, zuerst einzeln, dann in divergierenden Büscheln, schließlich in fadenartigen oder strauchartigen Aggregaten,

ähnlich wie bei den entsprechenden Versuchen mit Kaffein. Ist die Theobrominlösung konzentriert, so entstehen sofort gelbe, strahlige und fadenartige Kristallaggregate. Ganz derselbe Versuch läßt sich anstatt mit reinem Theobromin mit Schnitten aus der Kakaobohne machen, auch hier erhält man gelbe Nadeln von demselben Aussehen und denselben Eigenschaften. Es handelt sich hier, wenigstens der Hauptmasse nach, um die Doppelverbindung des Alkaloids mit Salzsäure und Goldchlorid.

Die Reaktion gelingt auch mit der Samenschale, hier aber weniger deutlich, da das Theobromin in viel geringerer Menge vorhanden ist. Echte Kakaopräparate, auch wenn in kleinen Mengen vorhanden, geben prompt die Reaktion auf Theobromin. Ob es in den beiderlei Zellen des Embryos, den farblosen sowohl als in rotgefärbten vorkommt oder nur in den einen von beiden, läßt sich vorläufig nicht entscheiden, da das Theobromin nicht in der Zelle selbst als Goldsalz niedergeschlagen worden kann. Jedenfalls dürfte das Alkaloid in der Mehrzahl der Embryozellen seinen Sitz haben. Bekanntlich enthält die Kakaobohne auch etwas Kaffein. Bei der großen Ähnlichkeit der Kristalle der Goldsalze der beiden Alkaloide können aber Kaffein und Theobromin nebeneinander in der geschilderten Weise vorläufig nicht unterschieden werden.

#### 16. Die Alkaloide der Senfsamen.

Der Same des weißen Senfs *Sinapis alba* L. enthält eine Reihe interessanter Körper: 1. das Alkaloid Sinapin, 2. das Glykosid Sinalbin, 3. das Ferment Myrosin, 4. die Eruksäure; der schwarze Senfsame, *Brassica nigra* Koch, enthält kein Sinalbin, wohl aber Sinapin.

Das Sinapin,  $C_{16}H_{25}NO_6$ , findet sich als Rhodansinapin oder Schwefeleysinapin im Samen vor. Das letztere kristallisiert in glasglänzenden, sternförmig angeordneten oder zu Warzen gruppierten Prismen, die sich zumal in warmem Wasser und Weingeist mit gelber Farbe lösen und sich mit Ferrisalzen röten. Die Salze des Sinapins werden durch die geringsten Spuren eines Alkalis, schon durch Brunnenwasser oder Tabakrauch intensiv gelb und durch Salpetersäure vorübergehend dunkelrot. Kali-, Natronlauge, Kalkwasser und Barytwasser lösen den Körper fast momentan mit gelber Farbe auf. Diese Reaktion gelingt auch mit Schnitten durch den Samen. Sie ist sehr empfindlich. Schon der Zusatz von schwachem Barytwasser oder die Annäherung eines mit Ammoniak befeuchteten Glasstabes zu einem im Wassertropfen liegenden oder etwas benetzten Schnitt genügen zum Hervorrufen der Gelbfärbung. Die Probe gelingt am besten, wenn man den Schnitt in konzentrierte Kalilauge legt, er färbt sich momentan intensiv gelb und beim Erwärmen tieforange. Schwarzer Senf gibt mit Kalilauge zwar Gelb- aber nicht Orangefärbung. Die Gelbfärbung hat auch praktisches Interesse, da sich beispielsweise der zur Verfälschung des Senfpulvers verwendete Leinsamen mit Kali nicht färbt. Mit Schnitten, die längere Zeit ( $\frac{1}{2}$  Stunde) im Wasser lagen, versagt die Reaktion völlig. Der Einwand, daß die Gelbfärbung möglicherweise auch von Gerbstoffen herrühren könnte, trifft nicht zu, da der Senfsame, abgesehen von einer Spur in der Samenschale, völlig gerbstofffrei ist. Hingegen muß zugestanden werden, daß die Färbung auch vom Glykosid Sinalbin her-

rühren kann und gewiß auch herrührt, weil sich dieses gegenüber Alkalien ebenso verhält wie das Sinapin. Es ist daher nicht möglich, zu sagen, ob beide Substanzen in ein und derselben Zelle oder in verschiedenen Teilen des Keimlings vorkommen. Nur das eine geht in Anbetracht der Tatsache, daß die Samenschale die Gelbfärbung mit Alkalien nicht annimmt, mit Sicherheit hervor, daß beide Substanzen nur im Embryo, nicht aber in der Samenschale liegen (MOLISCH I, 31).

#### 17. Taxin, $C_{37}H_{52}NO_{10}$ (?).

##### Vorkommen.

In jungen Zweigen, in Blättern und Früchten des Eibenbaumes *Taxus baccata*.

Eigenschaften. Amorphes Pulver. Kaum löslich in Wasser, löslich in Alkohol, Aceton, Chloroform, Benzol und Äther. Sehr giftig. Schmeckt bitter. Taxin löst sich in konzentrierter Schwefelsäure mit purpurroter Farbe.

Mikrochemischer Nachweis. RUSSEL (I) benutzte das mit etwas Wasser verdünnte MANDELINSche Reagenz (Schwefelsäure mit Ammoniumvanadat), das mit Taxin eine hellrote Färbung gibt. Schnitte durch junge Organe werden mit diesem Reagenz schwach rot, mittelalte orangefarben und ältere fast ziegelrot.

Das Taxin ist in den Vegetationspunkten reichlich vorhanden, bei weiterer Entwicklung der Organe nimmt es wieder ab, dann wieder zu und erreicht in völlig ausgewachsenen Organen ein Maximum (RUSSEL I).

#### Alkaloide von Narzissen und Orchideen

Bei einer Reihe von Monokotylen haben ERRERA und seine Schüler es hauptsächlich auf Grund von allgemeinen Reagentien wahrscheinlich gemacht, daß Alkaloide vorkommen dürften. Es sind dies *Clivia numata* Benth (MOLLE II).

Narcissus-Arten (ERRERA, MAISTRIAU et CLAUTRIAU I).

Orchideae. *Dendrobium nobile* (WILDEMANN I)

*Dendrobium Ainsworthii* (WILDEMANN I)

*Cria*, *Catasetum*, *Phalaenopsis* (DROOG I)

DROOG hat 104 Arten der Orchideen, die 78 Gattungen angehören, mikrochemisch untersucht und bei 9 Arten Alkaloide festgestellt. Da aber diese Alkaloide fast nur mikrochemisch geprüft wurden und in reiner Form daher unbekannt sind, so begnüge ich mich mit dem Hinweis darauf, ohne auf das Mikrochemische einzugehen.

#### X. Eiweißkörper.

Die Eiweißstoffe bilden eine physiologisch wohl charakterisierte Gruppe, deren Glieder sich von den Kohlehydraten und Fetten wesentlich dadurch unterscheiden, daß sie neben C, O, H noch Stickstoff und Schwefel, manchmal auch Phosphor enthalten. Sie sind kolloidaler Natur. Durch verschiedene Mittel können sie ihres kolloidalen Charakters beraubt werden. Man nennt diesen Vorgang Denaturierung oder Koagulation. Er kann herbeigeführt werden durch gewisse Fällungsmittel, wie Alkohol, Aceton, Metallsalzlösungen (Eisenchlorid, Kupfersulfat,



Sublimat usw.), organische Säuren, starke Mineralsäuren usw. Gewöhnlich sind die Eiweißkörper amorph. Es gibt in der Pflanze aber auch kristallisierte Eiweißstoffe, und manche, die in der lebenden Zelle niemals kristallisiert auftreten, können durch Ammonsulfat, Magnesiumsulfat oder Kochsalz ausgesalzen und kristallisiert gewonnen werden, wie das Phykoerythrin und Phykocyan (vgl. p. 256 und 259). Die Eiweißkörper können als Kondensationsprodukte der Aminosäuren aufgefaßt und mit Rücksicht auf die Pflanze eingeteilt werden in

#### I. Eigentliche Eiweißstoffe (Proteine).

- a) Albumine.
- b) Globuline und Nukleoalbumine.
- c) Gliadine.

#### II. Proteide.

- a) Nukleoproteide.
- b) Glukoproteide.

Ferner gehören die Spaltprodukte der Eiweißkörper hierher: die Albumosen, Peptone und Nukleinsäuren. Die Proteide stellen Verbindungen von Proteinen mit anderen hochmolekularen Substanzen (Nukleinsäuren, Kohlehydraten usw.) dar und gehören zu den kompliziertesten Stoffen des Pflanzenreiches. Ihre Spaltungsprodukte sind oft sehr zahlreich und oft an und für sich schon sehr kompliziert. Da von keinem Eiweißkörper die Konstitution bekannt ist und nur Gruppenreaktionen auf Eiweiß zur Verfügung stehen, muß man sich, wenigstens mit Rücksicht auf die Pflanzenzelle, häufig mit der Feststellung der Tatsache begnügen, daß überhaupt ein Eiweißkörper vorliegt. Für den Botaniker ist diese Aufgabe, da das Eiweiß einen integrierenden Teil wohl jeder Zelle bildet, sehr wichtig, er kommt häufig in die Lage, Eiweiß nachweisen zu müssen, und dies bewerkstelligt er durch Heranziehung gewisser physikalischer Eigenschaften und die sogenannten Eiweißreaktionen, von denen die brauchbaren hier behandelt werden sollen

#### Nachweis.

1. Xanthoproteinsäurereaktion. Eiweißkörper färben sich besonders beim Erwärmen mit konzentrierter Salpetersäure dunkelgelb. Die Färbung geht bei Zusatz von Natronlauge im Überschuß in Rotbraun und bei Zusatz von verdünntem Ammoniak in Orange über. Die Reaktion beruht auf der Bildung von Nitroderivaten. Die Gelbfärbung der Haut oder des Fingernagels beim Betupfen mit Salpetersäure kommt durch diese Reaktion zustande. Die Färbung unterm Mikroskop ist oft eine schwache; auch ist zu beachten, daß manche organische Körper, die nicht der Eiweißgruppe angehören, mit Alkalien schon allein gelb gefärbt werden.

2. Die RASPAIL'sche Reaktion wurde 1833 von RASPAIL (I) entdeckt. Wird Eiweiß mit konzentrierter Zuckerköslung und dann mit konzentrierter Schwefelsäure versetzt, so färbt es sich purpur, violettrot oder rot. Die Reaktion wird durch den aromatischen Kern des Eiweißes bedingt (KRASSER I, 125). RASPAIL wußte auch schon, daß gewisse Fette und Harze (vgl. p. 118 u. 168) die Probe gleich-

falls geben. Man wird daher in der Deutung der Reaktion Vorsicht obwalten lassen müssen. In Pflanzengewebe tritt die RASPAILSche Probe oft auf Zusatz von Schwefelsäure allein ein. Dies kommt daher, weil entweder Zucker schon vorhanden war oder aus anderen Kohlehydraten, wie Zellulose, Stärke, Glykosiden usw. durch die hydrolysierende Wirkung der Schwefelsäure entsteht. Ähnliche Färbungen rufen mit Schwefelsäure auch gewisse Glykoside (Salicin, Coniferin) und Alkaloide (Nikotin) hervor.

3. MILLONS Reaktion, Eiweiß nimmt mit MILLONS Reagens (vgl. p. 21) in der Kälte langsam, rascher bei schwachem Erwärmen eine ziegelrote Färbung an. Auch diese Reaktion ist nicht eindeutig, denn nach den Untersuchungen von NASSE (I), KRASSER (I) und anderen geben auch verschiedene andere Körper (Tyrosin, Salicylsäure, Oxymandelsäure, Phenol, Thymol, Vanillin, Naphtol), also Körper mit einfach hydroxyliertem aromatischen Kern Rotfärbung. Trotzdem kann die Probe in Kombination mit anderen beim Eiweißnachweis gute Dienste leisten.

4. Die Reaktion mit alkalischem Kupfersulfat (Biuretreaktion). Eiweiß gibt mit Kupfersulfatlösung und Kali- oder Natronlauge behandelt eine meist violette Färbung, ähnlich wie Biuret, daher der Name. Peptone färben sich unter denselben Bedingungen ähnlich oder blaß rosa oder purpurrot. Gewisse Kohlehydrate und einige nicht aromatische Säuren liefern auch blaue Lösungen, man darf daher vermuten, daß die Reaktion von dem nicht aromatischen Kern des Eiweißes veranlaßt wird. Die Reaktion wird zweckmäßig in der Weise ausgeführt, daß man die Schnitte zunächst für kurze Zeit in eine konzentrierte wässrige Kupfersulfatlösung einlegt, in Wasser rasch hin und herschwenkt und dann in Kalilauge (1 T. Kalihydrat und 1 T. Wasser) überträgt. Die Reaktion versagt oft, wenn wenig Eiweiß vorhanden ist. Wenn man z. B. völlig ausgebildete Parenchymzellen der Probe unterwirft, so erhält man gewöhnlich negative Resultate, hingegen geben LÖW und BOKORNY (I, 58) an, daß man auch bei ausgewachsenen Zellen (Markstrahlen von Pinus) eine sehr schöne Rosafärbung erhält, wenn man die Präparate zuerst in Kalilauge von 1.33 spez. Gew. etwa 5 Minuten liegen läßt, die anhängende Lauge mit Fließpapier entfernt und dann mit einer ½proz. Kupfervitriollösung behandelt.

5. Aldehydreaktionen. REICHL (I) hat einige gute Farbenreaktionen aufgefunden, die gewisse Eiweißkörper mit verschiedenen Aldehyden geben und hat mit MIKOSCH diese Reaktionen auf ihre Verwendbarkeit in der botanischen Mikrochemie geprüft (REICHL und MIKOSCH I). Brauchbar erwiesen sich die Proben mit Salicylaldehyd, Anisaldehyd, Vanillin und Zimtaldehyd. Die Präparate werden 24 Stunden in der betreffenden ½ bis 1proz. Aldehydlösung belassen und dann auf dem Objektträger in einem Tropfen mäßig verdünnter Schwefelsäure (1:1), der einige Tropfen Ferrisulfatlösung beigefügt wurde, getaucht. Eiweißkörper färben sich entweder sofort oder nach einer Stunde und darüber mit Salicylaldehyd violett bis blau, mit Anisaldehyd violettrot bis blauviolett, mit Vanillin violett bis veilchenblau und mit Zimtaldehyd rot, violett, dunkelblau oder rotgelb. Erwärmen beschleunigt die Reaktion. Es werden nicht alle Eiweißkörper

angezeigt, vorwiegend die, die den aromatischen Atomkomplex Skatol enthalten. „Längsschnitte aus Stamm und Wurzel von 12 Tage alten Keimpflanzen von *Zea Mais*, *Phaseolus vulg.*, *Pisum sat.*, *Helianthus annuus*, *Cucurbita Pepo*, *Abies exc.*, Schnitte durch Kartoffelparenchym, durch ruhende Kotylen von *Phaseolus* und ruhende Samen von *Zea Mais* färben sich nach vorher beschriebener Behandlung mit Salicylaldehyd anfangs schwach rot, nach längerer Einwirkung (6 Stunden) hingegen dunkelviolett; mit Anisaldehyd weinrot, nach längerer Einwirkung der Säure intensiver; mit Vanillin anfangs rot, später aber tiefblau; mit Zimtaldehyd orangerot, das nach einiger Zeit ins Gelb übergeht.“ Die Färbungen lassen sich auch noch bei stärkeren Vergrößerungen (800 bis 900) beobachten.

6. Färbung durch Berlinerblau. Wenn man nach HARTIG (I) Schnitte zuerst in eine verdünnte Lösung von gelbem Blutlaugensalz taucht, sorgfältig abwäscht und dann in eine Lösung von Eisenchlorid einlegt, so werden die Kerne tiefblau. ZACHARIAS (I, 211) hat diese Färbungsmethode etwas modifiziert und neuerdings zum mikrochemischen Nachweis von Eiweiß verwendet. Er verwendet ein Gemisch, bestehend aus 1 Vol. einer wässrigen 10proz. Lösung von gelbem Blutlaugensalz, 1 Vol. Wasser und 1 Vol. Essigsäure (spez. Gewicht 1,063). In dieses leicht zersetzliche Gemenge, das immer frisch bereitet werden muß, werden die Schnitte für 1 Stunde gebracht, dann in 60proz. Alkohol so lange gewaschen als die Waschflüssigkeit noch sauer reagiert oder sich mit Eisenchlorid blau färbt. Setzt man dann verdünnte Eisenchloridlösung hinzu, so nehmen die Eiweißstoffe, die mit Blutlaugensalz eine nicht auswaschbare Verbindung eingehen, infolge der nun eintretenden Berlinerblaubildung eine intensiv blaue Farbe an. Die Reaktion hat für die makroskopische Erkennung der Eiweißstoffe keine Bedeutung, für die mikrochemische Analyse kann sie aber namentlich in Kombination mit anderen Proben wichtig sein, so namentlich für die Differenzierung und Unterscheidung gewisser eiweißhaltiger Inhaltskörper (Leukoplasten, Chlorophyllkörner, Nukleoli).

7. Verdauung durch Fermente. Bekanntlich werden durch Pepsin und Pankreatin gewisse Eiweißkörper in lösliche Verbindungen, in Peptone übergeführt, d. h. verdaut. Von dieser Eigenschaft hat man in der Mikrochemie ebenfalls Gebrauch gemacht. Unter den Botanikern war es namentlich ZACHARIAS (I, II, III, IV, V), der sich mit der Einwirkung der Verdauungsfermente auf den Zellkern und das Cytoplasma abgegeben hat. Die Verdauung wird nach ZIMMERMANN (I, 129) so durchgeführt, daß man die zu untersuchenden Objekte für einige Stunden in ein Gemisch von 1 Teil käuflichem Pepsin-Glyzerin und 3 Teilen Wasser, das mit 0,2proz. gewöhnlicher, chemisch reiner Salzsäure angesäuert ist, einlegt und auf einer Temperatur von etwa 40° C erhält. Das Pankreatinglyzerin wird ebenso benutzt, soll aber vorher mit dem dreifachen Volumen Wasser verdünnt werden<sup>1)</sup>. Wie die Salzsäure allein wirkt, kann durch Kontrollversuche festgestellt werden. Die Objekte können frisch oder als Alkoholmaterial unter-

1) Beide Fermente können in haltbarer Form bei Dr. G. GRUBLER in Leipzig, Zentralstelle für mikroskopisch-chemischen Bedarf, bezogen werden.

sucht werden; die besten Bilder erhält man, wenn man Pflanzenobjekte verwendet, die nur 24 Stunden in Alkohol lagen.

Während die eigentlichen Eiweißstoffe durch die Pepsinsalzsäure zum Verschwinden gebracht werden, werden die Nukleine in Übereinstimmung mit makrochemischen Befunden wenig oder gar nicht angegriffen. Die Nukleine unterscheiden sich von den anderen Eiweißstoffen außerdem durch ihren Phosphorgehalt, sind fast unlöslich in Wasser, unlöslich in verdünnten Mineralsäuren, leicht löslich in selbst sehr verdünnten kaustischen Alkalien, Ammoniak, konzentrierter Salpeter- und rauchender Salzsäure. Sie sind in frisch gefälltem Zustande löslich in Soda und phosphorsaurem Natron. Auf Grund dieser Eigenschaften konnte ZACHARIAS (II) auf mikrochemischen Wege an den Kernen von *Tradescantia virginica*, *Ranunculus Lingua* u. a. zeigen, daß die Kerne und innerhalb dieser besonders das Chromatin der Hauptmasse nach aus Nukleinen bestehen. Auch die Kernplattenelemente setzen sich aus dieser Substanz zusammen, hingegen nicht die Spindelfasern des sich teilenden Kernes (ZACHARIAS II, 175). Abgesehen von den Kernen bleibt in Pepsin auch sonst ein großer Teil des Protoplasmas ungelöst. Diese sich nicht lösenden Stoffe zeigen von Nukleinen abweichende Reaktionen und werden von ZACHARIAS als Plastin zusammengefaßt. Außer den erwähnten Substanzen enthalten Zellkern und Plasma noch in Pepsin lösliches Eiweiß. Besonders reich daran sind die Nukleolen oder Kernkörperchen (ZACHARIAS IV, 306). Man versteht darunter meist kugelige Gebilde, die in der Zahl 1—3 oder in noch größerer im Kerne vorkommen, aus gallertigem Eiweiß, wahrscheinlich aus Nukleoproteiden (MEYER II) bestehen und als Reservestoff dienen.

Mit dem mikrochemischen Nachweis verschiedener Eiweißkörper in der Zelle hat sich auch SCHWARZ (I) befaßt, er glaubt darin acht verschiedene Eiweißkörper nachgewiesen zu haben. Da aber diese Stoffe heute nicht chemisch definierbar sind und auch makrochemisch bisher nicht untersucht werden konnten, so soll hier nicht weiter darauf eingegangen werden. Von anderen sogenannten Eiweißreaktionen — vgl. die Übersicht bei WÉVRE (I) — mögen hier noch die mit Alloxan (KRASSER I, 135; KLEBS I), mit Salzsäure, mit Chinonen (RACIBORSKI I) und die mit molybdänsäurehaltiger Schwefelsäure erwähnt sein. Von einem speziellen Eingehen auf diese Proben darf hier abgesehen werden, da sie mit zu vielen anderen Stoffen dieselben Färbungen geben wie mit Eiweiß. Es sei nochmals betont, daß es derzeit überhaupt kein eindeutiges Eiweißreagens gibt und daß man daher beim mikrochemischen Nachweis immer mehrere Proben miteinander kombinieren und überdies die Quellbarkeit, Färbbarkeit durch Jod und durch Anilinfarbstoffe, Aussalzung und andere physikalische Eigenschaften mit in Betracht ziehen muß, um einen möglichst sicheren Schluß zu ziehen.

Ausführliches über den makro- und mikrochemischen Nachweis des Eiweißes findet man bei MEYER (II, 481).

Daß die geschilderten Eiweißreaktionen auch dazu herangezogen werden können, um den Gehalt und die Verteilung des Eiweißes in ganzen Organen makroskopisch zu demonstrieren, hat jüngst MOLISCH (IV) gezeigt

Über das Vorkommen von Eiweiß in der Zelle und im Gewebe, im besonderen über spezielle interessante Vorkommnisse von Eiweiß soll in einem folgenden Kapitel berichtet werden.

## XI. Fermente.

Die Pflanze und das Tier erzeugen verschiedene Stoffe von unbekannter Zusammensetzung und Konstitution, die durch ihre Anwesenheit langsam verlaufende Reaktionen beschleunigen. Sie wirken alle katalytisch. Solche Körper werden ungoformte Fermente oder Enzyme genannt. Ihre Kenntnis nimmt von Tag zu Tag so zu, daß man ohne Übertreibung sagen kann, daß ein großer Teil des Stoffwechsels der Lebewesen mit den Leistungen der Fermente zusammenhängt. Ich erinnere nur an die Diastase, die proteolytischen und zahlreiche andere hydrolysierende Enzyme, ferner an die Gärungsfermente, die Oxydasen, Katalasen u. a.

Mit Rücksicht auf die große Wichtigkeit der Fermente im Getriebe des Stoffwechsels und im Leben der Organismen überhaupt hätte es selbstverständlich eine große Bedeutung, wenn wir über den Sitz des Enzyms in der Zelle Genaueres wüßten, und wenn wir Mittel hätten, Fermente in den Zellen, Geweben und Organen an Ort und Stelle nachzuweisen. Leider muß gesagt werden, daß wir von diesem Ziele noch weit entfernt sind, ja eigentlich noch fast ganz am Anfange stehen, da wir sichere, eindeutige mikrochemische Reaktionen auf Enzyme nicht kennen. Das Wenige, was bis heute über die Mikrochemie der Enzyme bekannt geworden ist, soll im folgenden der Hauptsache nach zusammengestellt werden.

### 1. Die Diastase.

Man versteht darunter eine Gruppe von Fermenten, die die Fähigkeit besitzen, aus der Stärke durch einen hydrolytischen Prozeß Dextrine und Maltose zu bilden.

Mikrochemie. Ein sicheres Reagens auf Diastase kennt man vorläufig nicht. Doch läßt sich die Einwirkung der Diastase auf die Stärkekörner, die sich in eigenartigen Korrosionserscheinungen kundgibt, mikroskopisch leicht feststellen. Untersucht man die Stärkekörner eines keimenden Weizenkorns, so bemerkt man häufig im Profil mehr oder weniger keil- oder kegelförmig erscheinende Porenkanäle, die im Gegensatz zu den intakten Partien eine deutliche Schichtung aufweisen und auf der Flächenansicht wie Membrantüpfel aussehen. Später dringen die Porenkanäle immer mehr vor, verzweigen sich und treten auch in Verbindung, so daß das Stärkekorn wie von einem Kanalnetz durchsetzt erscheint und schließlich zum Zerfall gebracht wird.

Nach KRABBE (I, 528) und GRÜSS (I) nehmen die Porenkanäle ihren Anfang von außen, im Innern bilden sich Kanäle nur als sekundäre Abzweigung von älteren, die von außen entstanden. Die Diastase wirkt, da sie nicht in die intermicellaren Räume einzudringen vermag, nicht auslaugend, sondern die Porenkanäle entstehen dadurch, daß die Stärkesubstanz an bestimmten Punkten allmählich, gleichsam Molekül für Molekül, weggenommen wird (KRABBE 528). Dagegen ist MEYER (I, 228) der Ansicht, daß die Diastase auch in das Korn einzudringen und im Innern Porenräume zu schaffen vermag.

Bekanntlich kommt auch im menschlichen Speichel ein diastatisches Ferment vor, das auf Stärke rasch abbauend einwirkt. Von großem Interesse für die Fermentforschung ist die Entdeckung BIEDERMANN'S (I), derzufolge nicht bloß der Speichel sondern auch die Asche des Speichels auf Stärkekleister bzw. reine Amyloselösungen diastatisch wirkt. Da BIEDERMANN zeigen konnte, daß reine Lösungen von Chloriden der Alkali- und Erdmetalle ähnlich wie Diastase Stärke abbauen, so wird es wohl wahrscheinlich, daß derartige Salze in der Speichelasche die diastatische Wirkung veranlassen. Er meint, daß unter Mitwirkung bestimmter Ionen aus der Amylose eine fermentativ wirkende Substanz entsteht, die nach MICHAELIS als eine Verbindung eines Amylosebestandteils mit den Ionen aufzufassen wäre (I. 25).

## 2. Oxydasen.

Ungemein verbreitet im Pflanzen- und Tierreiche sind gewisse Fermente, die oxydable Substanzen in Gegenwart von molekularem Sauerstoff oder anderen Sauerstoffquellen (Peroxyde) oxydieren und daher den Namen Oxydasen erhalten haben. Hierher gehört z. B. die Lakkase, ein Ferment, das bei der Bildung des tiefschwarzen Lackes aus dem Milchsaft des Lackbaumes *Rhus vernicifera* eine wichtige Rolle spielt, ferner die Tyrosinase, die eine spezifische Wirkung auf das Tyrosin ausübt u. a.

Die Wirkungsweise der Oxydasen im Organismus ist noch wenig bekannt, doch ist man geneigt, ihnen bei den Oxydationsvorgängen im Tier und in der Pflanze, insbesondere bei den Atmungsvorgängen, eine wichtige Leistung zuzuschreiben (PALLADIN I).

BACH und CHODAT (I) sehen in den Oxydasen keinen einheitlichen Körper, sondern halten sie für zusammengesetzt 1. aus Peroxydasen, d. h. aus oxydierenden Fermenten, die nur in Gegenwart organischer oder anorganischer Peroxyde wirken und das Oxydationsvermögen dieser katalytisch beschleunigen, und 2. aus den Oxygenasen, leicht oxydablen Substanzen, die den molekularen Sauerstoff unter Peroxydbildung aufnehmen und dann durch die Peroxydase aktiviert werden.

### Der mikrochemische Nachweis

1. Guajak-Wasserstoffsuperoxyd. Man nimmt zwei Glasdosen, die eine wird mit einer frisch bereiteten Lösung einer mäßig verdünnten Lösung von Guajakharz in absolutem Alkohol, die andere mit Wasserstoffsuperoxydlösung beschickt. Legt man Schnitte durch frische Pflanzenteile für mehrere Minuten in die Guajaklösung und dann in die Wasserstoffperoxydlösung, so färben sie sich in dieser sofort oder nach einer Minute mehr oder minder blau, falls Oxydasen im Schnitte vorhanden sind. Es kann vorkommen, daß eine Bläuung schon in der Guajaklösung eintritt, immer aber wird die Bläuung in der Wasserstoffsuperoxydlösung verstärkt. Die Schnitte werden hier oft tintenblau. Es ist leicht zu beobachten, daß die bläuenden Körper oft recht scharf lokalisiert sind. Ein frischer Schnitt durch das Hypokotyl von *Helianthus annuus* wird in der Guajaklösung rasch in der Epidermis, der subepidermalen Schicht und im Gefäßbündelring blau. Beim Eintauchen in die  $H_2O_2$ -Lösung wird die Bläuung intensiv und verbreitet sich schließlich über den ganzen Querschnitt. Viele Details

über die Lokalisation und das Auftreten der Bläunung findet man in den Arbeiten von GRÜSS (I—III).

Daß Pflanzensäfte sich mit Guajak und Wasserstoffperoxyd bläuen, war bereits SCHÖNBEIN bekannt. Man hat diese in Pflanzengeweben eintretende Bläunung häufig als Diastasereaktion hingestellt (LINTNER I, GRÜSS I). Obwohl ich nicht daran zweifle, daß die Bläunung in vielen Fällen von Diastase herrühren dürfte, muß man sich doch hüten, diesen Schluß auf die erwähnte Reaktion allein zu stützen, da ja auch andere Körper die Bläunung geben. PAWLEWSKI (I, 1313), der die Unsicherheit dieser Reaktion als Diastasereaktion erkannt und kritisiert hat, machte darauf aufmerksam, daß, abgesehen von Pepton, Gelatine und Eiweiß, auch Nitrite, Ozon, Chlor, Brom, Jod, Chromsäure, Kaliumpermanganat und Ferricyankalium mit Guajak Blaufärbung geben, so daß die angeführte Reaktion in der Anwendung auf Diastase an Wert bedeutend verliert. Die angeführten mineralischen Substanzen dürften in der Pflanze wohl niemals oder höchst selten die Bläunung hervorrufen, weil sie darin nicht oder selten vorkommen. Nach diesem Sachverhalt möchte ich schließen, daß die eintretende Bläunung mit Guajak und  $H_2O_2$  stets auf einen oxydierenden Körper und in den meisten Fällen auf Oxydasen deutet.

2. Ein vortreffliches Reagens zum Nachweis minimaler Mengen aktiven Sauerstoffs machte WURSTER (I) bekannt, das auch dem Botaniker Dienste leisten kann (MOLISCH III, 231). Es ist ein Reagenzpapier, das mit Tetramethylparaphenylendiamin getränkt ist. Das im Handel unter dem Namen „WURSTERS Papier“ oder „Tetrapapier“ erhältliche Reagens färbt sich im Kontakt mit aktivem Sauerstoff sofort blau, um sich bei weiterer Oxydation wieder zu entfärben.

Legt man ein solches Papier so zwischen die beiden Hälften einer eben aufgeschnittenen Kartoffelknolle, daß das eine Ende tief im Innern liegt, das andere aber über die Schale hervorragt, so entsteht bei Druck genau da, wo das Korkkambium liegt, also knapp unter der braunen Schale, ein tiefblauer Streifen, während sich das Innenparenchym erst viel später färbt. WURSTERS Papier gibt, wenn man die frische Schnittfläche eines Keimstengels von *Helianthus annuus* sanft auf das Papier aufdrückt, ein anatomisches Bild; Epidermis und Gefäßbündelring erscheinen als blaue Ringe, während Mark und innere Rinde sich auffallend weniger färben. Ähnliche Versuche, mit Keimstengeln von *Phaseolus multiflorus*, *Vicia sativa*, *Cucurbita Pepo* und *Zea Mais* durchgeführt, ergaben, daß die genannten Pflanzen WURSTERS Papier viel weniger bläuen als *Helianthus*, aber Guajak-Wasserstoffperoxyd durchwegs bläuen. Man wird wohl mit der Annahme nicht fehlgehen, daß die Bläunung des Tetrapapiers in vielen Fällen von den im Pflanzenreiche so verbreiteten Oxydasen herrührt, obwohl aus der Reaktion, streng genommen, nur auf aktivierten Sauerstoff geschlossen werden darf.

3. Indophenolprobe. Die von RÖHRMANN und SPRITZER (I) eingeführte Reaktion wurde zum Nachweis von Oxydasen empfohlen. Man verwendet eine frisch bereitete verdünnte Lösung von 1 Äquiv.  $\alpha$ -Naphthol, 1 Äquiv. p-Phenylendiamin und 3 Äquiv. Soda. Diese färbt sich an der Luft langsam, bei Gegenwart von Oxydasen sehr rasch blau. Die dabei entstehenden Farbstoffe gehören der Reihe der Indamine und Eurhodine an. Nach CZAPEKS (I, 469) Erfahrungen ge-

lingt diese Reaktion sehr allgemein mit pflanzlichen Geweben. Er betont aber, daß nach POHL (I) auch nicht enzymatische Körper, wie Amygdalin und gewisse Stoffe des Tannennadoleextraktes die Reaktion geben, weshalb man auch in der Indophenolprobe ein sicheres Reagens auf Oxydasen nicht erblicken darf.

4. Leptomin. Im Anschluß daran sei hier auf die Untersuchungen RACIBORSKIS (I, II, III) hingewiesen, der gezeigt hat, daß „die Leitungsbahnen aller höheren Pflanzen, also die Siebröhren und die Milchröhren, einen katalytisch wirksamen Körper führen, welcher die Fähigkeit besitzt, den an Wasserstoffsuperoxyd leicht gebundenen Sauerstoff auf andere Körper zu übertragen“ (II, 362). Er nennt diesen Körper Leptomin. Guajaklösung, die etwas  $H_2O_2$  enthält, wird durch Leptomin gebläut. Dieses ist in Wasser und Glycerin löslich, in Alkohol unlöslich, stellt in trockenem Zustande ein amorphes weißes Pulver dar und wird in Lösung bei  $95^\circ C$  in kurzer Zeit zerstört.

RACIBORSKI hat ferner gezeigt, daß der Milchsaft der meisten Gefäßpflanzen, z. B. von Euphorbia, infolge seines Leptominingehaltes mit einer geringen Menge einer alkoholischen Lösung, bestehend aus gleichen Teilen  $\alpha$ -Naphthol und Dimethylparaphenylendiamin und etwas  $H_2O_2$ , sich dunkelindigo bis schwarzblau färbt. Um das Leptomin in den Sieb- und Milchröhren mikroskopisch nachzuweisen, verwendet RACIBORSKI Alkoholmaterial, da durch den Einfluß des Alkohols gewisse Oxydationsfermente, die namentlich außerhalb der Leitungsbahnen ihren Sitz haben, zerstört werden, wodurch das Leptomin nun besser in Erscheinung tritt. Das Leptomin wird durch den Alkohol an Ort und Stelle gefällt und kann dann am besten mit  $\alpha$ -Naphthol und etwas  $H_2O_2$  behandelt werden, wobei das Leptomin eine dunkelviolette Färbung annimmt. Die Milchröhren- und Siebröhrenstränge treten dann ungemein deutlich hervor. Für mikroskopische Zwecke erhielt ich (MOLISCH II, 61) ausgezeichnete Resultate mit einer verdünnten alkoholischen  $\alpha$ -Naphthollosung allein, d. h. ohne Zusatz von Wasserstoffsuperoxyd. Ich verwende dazu eine 15proz. alkoholische  $\alpha$ -Naphthollosung, die mit Wasser soweit verdünnt wird, daß das  $\alpha$ -Naphthol auszufallen beginnt. Dann lüge ich so viel Alkohol hinzu, bis das ausgefallene  $\alpha$ -Naphthol sich wieder gelöst hat. Die Reaktion läßt dann zwar länger auf sich warten, sie tritt jedoch viel intensiver auf und währt viel länger. Ich belasse die Schnittte in der Naphthollosung gewöhnlich 3 bis 12 Stunden, länger aber nicht, da dann die Reaktion häufig wieder verblaßt.

Ich habe die interessanten Angaben RACIBORSKIS in verschiedenen Pflanzen unserer heimischen Flora nachgeprüft (MOLISCH II, 64) und kann die Richtigkeit derselben bestätigen, jedoch mit der Einschränkung, daß die Reaktion sehr häufig auch mit Elementen eintritt, die mit Leptom und den Milchröhren nichts zu tun haben, so daß von einer Beschränkung des Sauerstoffüberträgers auf Leptom und Milchsaft nur selten die Rede sein kann. Zwar erwähnt der Genannte selbst, daß auch viele Parenchymzellen die Reaktion geben können, ja daß bei *Coleus* fast der ganze Querschnitt reagiert, allein das Vorkommen des Leptomins außerhalb des Leptoms und der Milchröhren ist gewiß viel häufiger, als es nach den Untersuchungen RACIBORSKIS zu sein scheint, denn ich konnte in vielen Fällen bei verschiedenen Pflanzenarten in den Bast-, Kollenchym-, Phellogen- und Epidermiszellen Lepto-



min nachweisen. Diejenigen Elemente, die mit Guajak-Wasserstoff-superoxyd reagieren, geben auch die Reaktion mit  $\alpha$ -Naphthol, ich möchte dieser letzteren Reaktion sogar den Vorzug geben, weil sie viel prägnanter ist. Bei der Guajakreaktion tritt die Blaufärbung nicht bloß in den Elementen selbst auf, sondern auch in ihrer Umgebung, so daß oft schwer zu entscheiden ist, welche Blaufärbung primär und welche sekundär auftritt. Bei Anwendung von  $\alpha$ -Naphthol hingegen ist die Reaktion streng lokalisiert; sie tritt nur da auf, wo der oxydierende Körper seinen Sitz hat. Wie scharf die Lokalisierung ausgeprägt ist, geht schon daraus hervor, daß z. B. bei den Epidermiszellen junger einjähriger Oleanderstengel sich die inneren Wände allseitig violett färben, aber nicht die Außenwand. Man kann ferner beobachten, daß der Inhalt vieler Parenchymzellen ungefärbt bleibt, während ihre Wände starke Violett-färbung annehmen. Dasselbe gilt von den Bastzellen und den Leptomzellen bei Nerium. Wenn sich Inhalt und Wand bläuen, so ist schwer zu sagen, ob der oxydierende Körper beiden primär angehört oder ob dieser erst postmortal dem Inhalt entzogen und von der Wand gespeichert wird. Bedenkt man jedoch, daß sehr häufig die Wand sehr intensive Reaktion zeigt, der Inhalt aber keine, so wird wahrscheinlich, daß die oxydierende Substanz auch in diesen Fällen schon von vornherein in der Zellhaut ihren Sitz hatte.

RACIBORSKI hat aus seinen Untersuchungen auf eine respiratorische, dem Hämoglobin ähnliche Leistung des Leptomins geschlossen, die aber, solange wir nicht mehr über das Leptomin wissen, nicht anerkannt werden kann (MOLISCH II, 67). Wir müssen uns vielmehr bescheiden, derzeit in dem Leptomin einen oxydierenden Körper zu erblicken.

### 3. Cytase.

Es ist schon lange bekannt, daß das Endosperm vieler Pflanzen sich aus Zellen zusammensetzt, deren Wände aus Reservezellulose bestehen. Diese wird während des Keimprozesses ganz oder zum Teil aufgelöst und als Baustoff gleich der Stärke verwendet. Die Auflösung erfolgt durch Fermente, die instande sind, Zellulose, namentlich Hemizellulosen, zu lösen und als Cytase bezeichnet werden.

WIESNER (I) hat bereits die Aufmerksamkeit auf die enzymatische Wirkung der Gummiarten gelenkt, indem er zeigte, daß in den Gummiarten ein Ferment vorhanden ist, welches den Stärkekleister löst, zum Verschwinden bringt, aber nicht in reduzierenden Zucker, sondern wahrscheinlich in Dextrin umwandelt. Über diese Behauptung ist später viel diskutiert worden — ich verweise namentlich auf die Arbeiten von REINITZER (I—III), GRAFE (I, II) und TSCHIRCH (I) — und wenn es WIESNER auch nicht gelang, zu beweisen, daß die Gummibildung durch ein Ferment besorgt wird, so hat er jedenfalls darin Recht behalten, daß die Gummiarten häufig enzymatische Eigenschaften oxydatischer und diastatischer Natur besitzen. Es liegt nicht im Rahmen dieses Werkes, auf die physiologisch so wichtige Frage der Gummientstehung einzugehen, ich möchte nur darauf hinweisen, daß es in Übereinstimmung mit den Ideen WIESNERS GRÜSS (IV) gelang, die Wirkung der Gummi-Cytase auf Hemizellulosen in folgender Weise sichtbar zu machen.

### Nachweis der Cytase.

Einige Tropfen einer Kirschgummilösung werden auf einem Deckgläschen von 3,5 qcm ausgebreitet und darin Schnitte durch die Kotedonen der Lupine (*L. hirsutus*), deren Verdickungsschichten aus Galaktan bestehen, eingebettet. Um die Bakterionentwicklung zu hindern, wird zu den Schnitten etwas Thymolpulver gegeben. Hierauf kittet man das so zubereitete Deckgläschen mit Paraffin auf einen hohlen Holzklotz, dessen Höhlung etwas Wasser mit Toluol oder Thymol als Antiseptikum birgt. Bei Gegenwart von Cytase kann man, besonders wenn man von Zeit zu Zeit die Schnitte verschiebt, schon nach einigen Tagen an den sekundären Verdickungsschichten der Zellwände charakteristische Veränderungen und Lösungen wahrnehmen. Es tritt zuerst

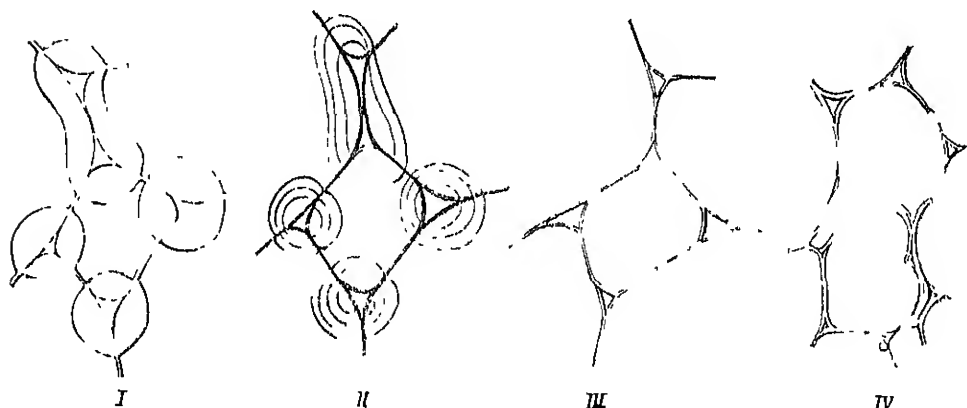


Fig. 101

Wirkung der Cytase auf die Zellwände aus dem Kotedo der Lupine (*L. hirsutus*)

- I Zelle mit Wandverdickungen
- II Dieselbe Zelle nach 4tägiger Einbettung in Kirschgummilösung
- III Dieselbe Zelle nach 16tägiger Einbettung in Kirschgummilösung.
- IV Dieselben Zellen, bei denen sogar die primäre Membran in Kirschgummi aufgelöst wurde. Nach Grüss (IV)

eine Lamellierung und dann ein Zerfließen der sekundären Schichten ein, so daß schließlich nur die primären Membranen als zierliches Netzwerk übrig bleiben (Fig. 101). Die Cytase läßt sich nicht immer in dieser Weise feststellen; unter acht Proben war die Hälfte ohne cytasische Wirkung. Am besten wirken die farblosen, eben aus dem Baume geflossenen Gummimassen (Grüss IV, 395).

### 4. Myrosin.

HEINRICH (II) hat in einer gründlichen Arbeit den Beweis erbracht, daß fast alle Cruciferen durch ein bestimmtes histologisches Element charakterisiert sind, das sich unter anderem dadurch auszeichnet, daß sein Inhalt neben anderen Eiweißreaktionen in prägnanter Weise die MILLONsche Reaktion zeigt. Er hielt den Inhalt für Eiweiß und bezeichnete diese Elemente als „Eiweißschläuche“. GUIGNARD (I) blieb es vorbehalten, ihre wahre Natur als „Myrosinzellen“ zu erkennen.

Diese kommen häufig in den Pflanzen gleichzeitig, aber räumlich getrennt, mit Sinigrin und anderen Senfölglykosiden (vgl. p. 186) vor und es ist bereits erörtert worden, daß das Myrosin das Sinigrin in Zucker, Senföl und Kaliumbisulfat zu spalten vermag. Daß es sich in den Idioblasten tatsächlich um Myrosin handelt, beweist GUIGNARD in folgender Weise. Der Stengel von *Cheiranthus* enthält weder Sinigrin noch eine analoge Verbindung, er führt aber in einer isolierbaren Schicht, und zwar in der inneren unverholzten Gefäßbündelscheide, Myrosin. Wenn man diese Schicht ablöst und in eine wässrige Lösung von myronsaurem Kali bringt, so wird dieses gespalten, und Senföl entsteht. Wird derselbe Versuch mit einem Gewebe ohne Myrosinzellen (Blatt oder Rinde von *Cheiranthus*) gemacht, so entsteht kein Senföl.

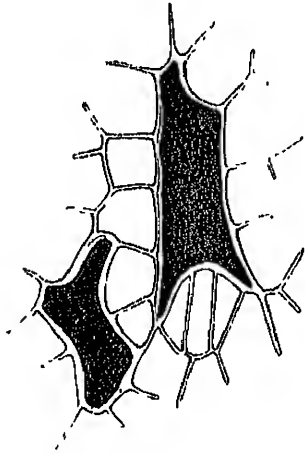


Fig. 102  
Zwei Myrosinzellen im Rindenparenchym der Wurzel vom schwarzen Rettich (*Raphanus sativus*) nach Behandlung mit MILLON'S Reagens.  
Vergr. 120.

Die Myrosinzellen (Fig. 102) zeigen, wie schon HEINRICHER dargetan hat, nicht nur die MILLON'Sche, sondern auch andere Eiweißreaktionen. Konzentrierte Salzsäure und darauffolgender Zusatz von Kalilauge hebt die Myrosinzellen durch orangerote Färbung hervor. Nach GUIGNARD werden sie beim Erwärmen fast bis zur Siedehitze in reiner Salzsäure, der auf 1 ccm der Säure ein Tropfen einer wässrigen Lösung von Orcin (1 : 10) beigegeben wurde, violett gefärbt. Nach SPATZIER (1, 60) ist die Violett-färbung sehr schwach, sie wird aber deutlicher, wenn man statt Orcin Orcin (1 : 10) verwendet. Eine verdünnte Lösung von p-Diazobenzolsulfosäure, frisch bereitet durch Eingießen eines Gemisches von sulfonsäurem Natrium und Kaliumnitrit in verdünnte Schwefelsäure, ruft in den Myrosinzellen eine gelbe Färbung hervor (SPATZIER 1).

PICHE (II) versuchte Myrosin in der Wurzel von *Raphanus sativus* im weißen und besonders im schwarzen Rettich, in der Weise nachzuweisen, daß er Schnitte durch die Rinde in eine 10proz. Kaliummyronatlösung einlegte, in der man bis zur Sättigung Baryum-, Strontium- oder Kalziumchlorid aufgelöst hat. Bei Verwendung von Baryumchlorid bedeckt sich der Inhalt einzelner, aber nicht aller „Eiweißschlitze“ mit weißen Kugeln, die wahrscheinlich aus Baryumsulfat bestehen. Die Erscheinung erklärt sich in der Weise, daß das Myrosin in der betreffenden Zellen das Myronat spaltet und das hierbei auftretende Kaliumbisulfat mit Baryumchlorid den Niederschlag gibt und das Ferment dadurch anzeigt.

Derselbe Autor war auch bestrebt, die Lokalisation des Sinigrins in der Rettichwurzel zu eruieren, doch konnte dies nicht mit Sicherheit erreicht werden. Da er aber fand, daß sich sehr viele Zellen, besonders die in der Nähe der Gefäße mit alkohol-ammoniakal. Silbernitratlösung schwarz, braun bis gelb, mit 1proz. Osmiumsäure schwarz und mit Soda-Kaliumpermanganatlösung gelbbraun färben, so hält er es für wahrscheinlich, daß alle diese Reaktionen sich auf Sinigrin beziehen dürften.

Die Myrosinzellen enthalten in den vegetativen Organen das Myrosin in gelöster Form, hingegen sieht man in den Samen der Cruciferen, wenn man Schnitte derselben in Mandelöl unterm Mikroskop beobachtet, das Myrosin in der Form von stark lichtbrechenden, farblosen und vollkommen homogenen Körnern. SPATZIER, der sie zuerst beobachtet hat, nennt sie, weil sie die Reaktion des Myrosins zeigen, Myrosinkörner.

Die Myrosinidioblasten führen Plasma, einen Kern und in dem assimilierenden Mesophyll von Organen mancher Cruciferen können nach den Beobachtungen SCHWEIDLERS(I) sogar Chlorophyllkörner vorkommen.

Verbreitung. Nach GUIGNARD (II, III, IV) kommt das Myrosin, abgesehen von den Cruciferen, auch bei den Capparideen, Resedaceen, Tropaeolaceen und Limnanthaceen lokalisiert vor. Auch *Carica Papaya* und *Moringa* sollen Myrosin führen. Die Angabe SPATZIERS, daß Myrosin auch im Samen von *Viola* vorkomme, beruht nach GUIGNARD auf einem Irrtum. Bei den Resedaceen ist das Myrosin nach GUIGNARD und SPATZIER in den vegetativen Organen ausschließlich in den Schließzellen der Spaltöffnungen enthalten. Eine Übersicht über die Verteilung der Myrosinzellen bei den Cruciferen und ihren Verwandten gab SOLEREDER (I).

### 5. Emulsin

ist das Ferment, welches das Amygdalin in Traubenzucker, Cyanwasserstoff und Benzaldehyd zu spalten vermag und das in amygdalinführenden Pflanzen häufig angetroffen wird (vgl. p. 192). Ähnlich wie bei den Cruciferen die Senfölglykoside und das dieselben spaltende Ferment Myrosin in verschiedenen Elementen, also räumlich getrennt, vorkommen, so kommt, wie JOHANNSEN (I) auf makrochemischem Wege zeigen konnte, auch bei den bitteren Mandeln eine räumliche Trennung von Amygdalin und Emulsin vor. Das Glykosid liegt im Parenchym der Keimblätter und das Ferment, das man bei allen (den süßen und bitteren) Mandeln vorfindet, in den axilen Partien des Embryo und den Gefäßbündeln der Kotylen.

Mikrochemisches. Spezifisch mikrochemische Reaktionen, die eindeutig Emulsin anzeigen, gibt es derzeit nicht. GUIGNARD (V) hat dieselben Proben, mit denen er die Lokalisation des Myrosins dartun konnte, auch zum mikrochemischen Nachweis des Emulsins herangezogen, ich meine die MILLONsche, die Biuretprobe und die mit Orensalzsäure (vgl. p. 324). Er untersuchte die Blätter von *Prunus Laurocerasus* und findet den Sitz des Glykosids in dem Parenchymgewebe und des Emulsins im Stranggewebe: in der Endodermis und im Perizykel der Leitbündel.

Nach LUTZ (I) findet sich in den Samen von *Eriobotrya japonica* das Amygdalin im Embryo und in den Keimblättern, das Emulsin aber nur in den letzteren.

Zum eindeutigen qualitativen mikrochemischen Nachweis von Emulsin (im Sinne eines Gruppenbegriffs) lassen sich nach BRUNSWIK (I) die auf p. 196 angeführten Blausäurereaktionen mit Silbernitrat und Benzidinkupferacetat heranziehen.

Die fein zerriebene oder gepulverte Substanz oder Schnitte werden in einer Mikrogaskammer mit fixem Boden mit 5% Amygdalinlösung,

die überdies ein Antiseptikum in Form von Toluol oder Chloroform enthält, angereichert und höchstens 24 Stunden der Fermentation bei Zimmertemperatur überlassen.

Nach  $1\frac{1}{2}$  bis 8 Stunden ist bereits abgespaltene CNII im hängenden Tropfen bei Anwesenheit von Emulsin nachweisbar.

Ein lokalisierter Nachweis des Emulsins gelang auch BRUNSWIK nicht, doch scheint es ihm wahrscheinlich, daß das Emulsin der Ferment-ausrüstung jeder einzelnen Zelle angehört und der Rosaceentypus mit spezifischen Emulsinzellen nur einen Spezialfall darstellt.

Gegenüber der Arbeit von GUIGNARD bemerkt PECHÉ (I, 9—10), daß ihm die erwähnten Eiweißreaktionen in den Gefäßbündelscheiden von *Prunus Lauro-cerasus* nicht gelangen. Er erzielte mit MILLON'schem Reagens nur eine gelbbraune und mit der Biuretprobe nur eine grüne oder kupferoxydulrote Färbung. Auch sah er die Palisadenzellen ebenso starke oder fast die gleiche Färbung geben wie die Gefäßbündelscheiden.

Auf Grund eigener Erfahrungen mit dem Kirschlorbeerblatt kann ich sagen, daß im Gegensatz zu den Myrosinzellen der Cruciferen die Emulsin führenden Elemente mit MILLON'schem Reagens keine ausgesprochenen Rottfärbungen geben, daß die verschiedensten Zellen des Blattes bräunliche oder bräunlichrote Färbung in ihrem Inhalte aufweisen und daher von einer sicher nachweisbaren Lokalisation des Emulsins kaum gesprochen werden kann. Der mikrochemische Nachweis des Emulsins mit Hilfe von Eiweißreagentien liegt eben, besonders bei Gegenwart von reichlichem Eiweiß- und Gerbstoffgehalt der Zellen, noch sehr im Argen, und bei dieser Sachlage wird man Schlüsse betreffend die Lokalisation des Emulsins nur mit äußerster Vorsicht ziehen dürfen.

V Verbreitung. Das Emulsin genießt nach neueren Untersuchungen eine weite Verbreitung. Es findet sich nicht bloß in der Familie der Rosaceen sehr häufig, sondern auch im Milchsaft von Manihot, in den Samen der meisten Leguminosen, in den Blättern von *Ancuba japonica*, *Thalictrum aquilegifolium*, *Sambucus nigra*, *Viburnum prunifolium*, in den Wurzeln vieler Orchideen, in zahlreichen Pilzen, gewissen Flechten und zahlreichen anderen Pflanzen. Es dürfte sich wohl nicht immer um ein und dasselbe Ferment, sondern um einander sehr nahe stehende Fermente handeln, also um Emulsine im Sinne eines Gruppenbegriffes.

## Literatur

zu p. 285 bis 326.

- Albo, G., I. Sulla funzione fisiologica della Solanina. (Contrib. alla Biologia veget. 1899, Vol. II, p. 185—209, Palermo.)
- Anema, P., I. Jahresber. d. Pharmazie, p. 197, Göttingen 1892.
- , II. Dezetel der alkaloiden bij enkele narkotische planten. Utrecht 1892.
- Bach und Chodat, I. Ber. d. ehem. Ges. 1903, p. 806; 1904, p. 36 und 1312
- Barth, H., I. Studien über den mikrochemischen Nachweis von Alkaloiden in pharmaz. verwandten Drogen. (Bot. Zbl. 1898, Bd. LXXV, p. 225.)
- Bauer, K., I. Der mikrochemische Nachweis des Berberins in Pflanzen und Drogen. (Ztschr. d. österr. Apothekervereins 1908, Jg. 46, p. 355.)
- Behrens, H., I. Anleitung zur mikrochemischen Analyse usw. 1896, 3. Heft.
- Biedermann, W., I. Fermentstudien. V. Mitteilung: Fermentbildung durch Ionenwirkung. Fermentforschung, Bd. IV, Heft 1, p. 1.

- Blau, H., I. Colchicingehalt der Herbstzeitlosensamen. (Ztschr. d. allg. österr. Apothekervereins 1903, Bd. XLI, p. 1091.)
- Boedeker, F. Ann. d. Chemie u. Pharm. 1848, Bd. LXVI, p. 384.
- Borščow, El., I. Beiträge zur Histochemie der Pflanze. (Bot. Ztg. 1874, p. 33.)
- Brandstetter, J., I. Über den mikrochem. Nachweis des Cocains in Erythroxylon Coca. (Pharm. Monatshefte. Wien 1922.)
- Brandt, J. Über einige neue Alkaloidreaktionen. Rostock 1876. Zitiert nach Wohtschall.
- Brunswik, H., I. Der mikrochemische Nachweis pflanzlicher Blausäureverbindungen. (Sitzungsber. d. Akad. d. Wiss. in Wien 1921, Bd. CXXX, Heft 12.)
- Cador, L., I. Anatomische Untersuchung der Matéblätter unter Berücksichtigung ihres Gehaltes an Thein. (Bot. Zbl. 1900, Bd. LXXXIV, p. 241.)
- Clautrian, G., I. Nature et signification des alcaloides végétaux. (Bruxelles 1900. Ref: Justs bot. Jahresber 1901, Jg. 29, p. 169.)
- , II. Localisation et signification des alcaloides dans quelques graines. (Ann. de l. Soc. belge de microscopie 1894, T. XVIII, p. 34. Ref. Beihefte z. Bot. Zbl. 1894, Jg. 4, p. 420.)
- , III. Recherches microchimiques sur la localisation des alcaloides dans le Papaver somniferum. (Recueil d. Institut. Botan. [Univ. Bruxelles] Errorr, 1906, T. II, p. 237. Ref. Ztschr. f. wiss. Mikroskopie 1889, Bd. VI, p. 243.)
- Droog, E. de, I. Contribution à l'étude de la localisation microchimique des alcaloides dans la famille des orchidées (Recueil de l'Institut. Bot. [Univ. Bruxelles] 1906, T. II, p. 347.)
- Eder, R., I. Über die Mikrosublimation von Alkaloiden in luftverdünntem Raume. Diss. Zurich, 1912.
- Elfstrand, M., I. Upsala Universitets Arskrift 1895.
- Erreia, Maistran et Clautrian, I. Première recherches sur la localisation et la signification des alcaloides dans les plantes. Bruxelles 1887.
- Erreia, L., I. Sur la distinction microchimique des alcaloides et des matières protéiques. Bruxelles 1889.
- , II. Some general results of the localisation of alcaloids in plants. (Recueil de l'Institut Bot. [Univ. Bruxelles] 1906, T. II, p. 185.)
- Feldhaus, J., I. Quantitative Untersuchung der Verteilung des Alkaloids in den Organen von Datura Stramonium L. Diss. Marburg 1903.
- Gerock, J. E. und Skippari, F. J., I. Über den Sitz der Alkaloide in Strychnosamen. (Arch. d. Pharm., Berlin 1892, Bd. 230, p. 555.)
- Gordin, H. M., I. Archiv d. Pharm. 1902, Bd. CCXI.
- Grote, V., I. Studien über das Gummiferment. (Wiesner-Festschrift, p. 253, Wien 1908.)
- , II. Zur Abwehr. (Ztschr. f. physiol. Chemie 1909, Bd. LXIII, p. 106.)
- Grüß, J., I. Über das Eindringen von Substanzen, besonders der Diastase in das Störkekorn. (Fünftucks Beitr. z. wiss. Bot. Bd. I, p. 310.)
- , II. Die Diastase im Pflanzenkörper. (Ber. d. Deutsch. bot. Ges. 1895, Bd. XIII, p. 2.)
- , III. Über Oxydasen und die Guajakreaktion. (Ebenda 1898, Bd. XVI, p. 129.)
- , IV. Über das Verhalten der Cytase und Cytokongulase bei der Gummibildung. (Jahrb. f. wiss. Bot. 1910, Bd. XLVII, p. 393.)
- , V. Biologie und Kapillaranalyse der Enzyme. Berlin 1912.
- Grutterink, A., I. Beitr. zur mikrochemischen Analyse einiger Alkaloide und Drogen usw. Rotterdam 1911.

- Gruttermink, A., II. Beitr. zur mikrochemischen Untersuchung einiger Alkaloide. (Ztschr. f. anal. Chemie 1912, Jg. 51, p. 175.)
- Guérin, P., I. Recherches sur la localisation de l'anagyrine et de la cytosine. (Bull. de la Soc. bot. de France 1895, p. 428. (Ref.: Bot. Zbl. 1896, Jg. 6, p. 18.)
- Guignard, L., I. Sur la localisation des principes, qui fournissent les essences sulfurées des Crucifères. (Compt. rend. Paris 1890, T. CXI, sem. 1, p. 249.)
- , II. Sur la localisation des principes actifs chez les Capparidées. (Ebenda 1893, T. CXVII, p. 493.) Tropaeolées. (Ebenda p. 587.) Limnanthées. (Ebenda p. 751.) Rosedacées. (Ebenda p. 861.)
- , III. Recherches sur la localisation des principes actifs chez les Capparidées, Tropaeolées, Limnanthées, Rosedacées. (Journ. d. Bot. 1893, T. VII, p. 315, 393, 417, 444.)
- , IV. Recherches sur certains principes actifs encore inconnus chez les Papayacées. (Journ. d. Bot. 1894, p. 67.)
- , V. Sur la localisation dans les plantes des principes, qui fournissent l'acid cyanhydrique. (Compt. rend. 1890, T. CX, p. 477.)
- Hanausek, T. F., I. Zur histochemischen Kaffeinreaktion. (Ztschr. d. Allgem. Österr. Apothekervereins 1891, Nr. 31, p. 606. Ref.: Bot. Zbl. 1891, Bd. XLVIII, p. 284.)
- Hartig, T., I. Über das Verfahren bei Behandlung des Zellkerns mit Farbstoffen. (Bot. Ztg. 1854.)
- Heinricher, E., I. Vorläufige Mitteilung über die Schlanchzellen der Fumariaceen. (Ber. d. Deutsch. bot. Ges. 1887, Bd. V, s. auch Bd. IX [1891], p. 181.)
- , II. Die Eiweißschläuche der Cruciferen usw. (Mitteilung an d. bot. Institut zu Graz 1888, p. 1.)
- Herder, M., I. Über einige neue allgemeine Alkaloidreagentien und deren mikrochemische Verwendung. Diss. Straßburg 1905, p. 33.
- Herrmann, O., I. Nachweis einiger organischer Verbindungen in den veget. Geweben. Diss. Leipzig 1876.
- Jacquemin, A., I. Sur la localisation des alcaloïdes chez les Légumineuses. (Recueil de l'Institut Bot. L. Errera, Univers. Bruxelles 1906, T. IV, p. 25.)
- Johannsen, W., I. Sur la localisation de l'émulsine dans les amandes. (Ann. des scienc. natur. Bot. sér. VII, T. VI, p. 118.)
- Klebs, G., I. Einige Bemerkungen zu der Arbeit von Krasser usw. (Bot. Ztg. 1887, Jg. 45, p. 697.)
- Klein, R., I. Über den mikrochem. Nachweis von Strychnin und Brucin im Samen von Strychnos nux vomica. Sitz.-Anzeig. d. Kais. Akad. d. Wiss. in Wien vom 22. Januar 1911.)
- Krabbe, G., I. Untersuchungen über das Diastaseferment usw. (Jahrb. f. wiss. Bot. 1890, Bd. XXI, p. 520.)
- Krasser, F., I. Untersuchungen über das Vorkommen von Eiweiß in der pflanzlichen Zellhaut, nebst Bemerkungen über den mikrochemischen Nachweis der Eiweißkörper. (Sitzungsber. d. Kais. Akad. d. Wiss. in Wien 1886, Bd. XCIV.)
- Lindt, O., I. Über den mikrochemischen Nachweis von Brucin und Strychnin. (Ztschr. f. wiss. Mikroskopie 1894, Bd. I, p. 237.)
- Lintner, C. J., I. Ztschr. Spir. 1886, 503.
- Loew, O. und Bokorny, T., I. Die chemische Kraftquelle im lebenden Protoplasma. München 1882, p. 58.

- Lotsy, J. P., I. De Localisatie van het Alcaloid in *Cinchona Calisaya*, *Ledgeriana* en in *C. succirubra* (Mededeel van de Laboratoria des Gouvernements Kina onderneming No. 1. Batavia 1898 20 Tafeln.)
- , II. Die Lokalisation der Alkaloide von *Cinchona*. (Amer. Drugg. and Pharm. Record. XXXIV, 1899, No. 2 Ref. Justs Bot. Jahrb. 1899, Bd. II, p. 45.)
- Lutz, L., I. Sur la présence et la localisation de l'émulsine dans les graines de *Peribotrya japonica*. (Bull. de la Soc. Bot. de France. Sér. 3, T IV, 1897, p. 263.)
- Mandolin, I. Pharm. Ztschr. f. Rußland 1883, Nr. 22—24. Ref.: Justs Bot. Jahrb. 1883, Abt. I, p. 75.
- Meyer, A., I. Untersuchungen über die Stärkekörner. Jena 1895, p. 228.
- , II. Morphologische u. Physiologische Analyse d. Zelle d. Pflanzen u. d. Tiere. I. Teil Jena 1920, p. 189.
- Metzger, K., Über Cocainchromat. (Pharmaz Ztg., Berlin 1889, p. 697.)
- Molisch, H., I. Grundriß einer Histochemie der pflanzlichen Genußmittel. Jena 1891.
- , II. Studien über den Milchsäure und Schleimsäure der Pflanzen Jena 1901.
- , III. Über einige Beziehungen zwischen anorganischen Stickstoffsalzen und der Pflanze. (Sitzungsber d. Kais. Akad. d. Wiss. in Wien, 1887, Bd. XCV p. 231.)
- , IV. Die Eiweißproben, makroskopisch angewendet auf Pflanzen (Ztschr. f. Bot 1916, p. 124.)
- Molle, Ph., I. Recherches de microchimie comparée sur la localisation des alcaloïdes dans les Solanées (Recueil de l'Institut bot. [Univers. Bruxelles] 1906, T II.)
- , II. Un alcaloïde dans *Clivia miniata* Benth. (Ebenda, T VI, p. 57.)
- Nasse, O., I. Über die aromatische Gruppe im Eiweißmolekül (Ber. ü. d. Sitz d. Naturf.-Ges. zu Halle 1879, Sitz. v. 8. März.)
- Nestler, A., I. Der direkte Nachweis des Umarns und Theins durch Sublimation (Ber. d. Deutsch. bot. Ges. 1901, Bd. XIX, p. 350.)
- Nieckel, E., I. Die Farbeneaktionen der Kohlenstoffverbindungen. (Berlin 1880, 2. Aufl., p. 7.)
- Palladin, W., I. Pflanzenphysiologie. Berlin 1911, p. 205.
- Pawlewski, B., I. Über die Unsicherheit der Gungakreaktion auf wirksame Dinstase. (Ber. d. Deutsch. chem. Ges. Berlin 1897, Bd. II, 30. Jg., p. 1313.)
- Peeche, K., I. Mikrochemischer Nachweis der Cyanwasserstoffsäure in *Prunus Laurocerasus* L. (Sitzungsber. d. Kais. Akad. d. Wiss. in Wien 1912, Bd. CXXI, Abt. I, p. 33.)
- , II. Mikrochemischer Nachweis des Myrosins. (Ber. d. Deutsch. Bot. Ges. 1913, p. 458.)
- Pietet, A., I. Die Pflanzenalkaloide und ihre chemische Konstitution. Berlin 1900.
- Pohl, J., I. Arch. exp. Pathol., Bd XXXVIII. Zitiert nach Czapek, Biochemie, Bd. II, p. 469
- Pozzi-Essot, M. E., I. Contributions à la recherche microchimique des alcaloïdes. (Comptes rend. 1901, p. 1062.)
- Raciborski, M., I. Beitr. z. bot. Mikrochemie. (Bull. de l'Acad. des scienc. de Cracovie 1900, p. 553.)
- , II. Ein Inhaltskörper des Leptoms. (Ber. d. Deutsch. bot. Ges. 1898, Bd. XVI, p. 52.)



- Raciborski, M., III. Weitere Mitteilungen über das Leptomin. (Ber. d. Deutsch. bot. Ges. 1898, Bd. XVI, p. 119.)
- , IV. Einige Demonstrationsversuche mit Leptomin. (Flora 1898, Bd. LXXXV, p. 302.)
- Raspail, I. Nouveau système de Chimie organique. Paris 1833.
- Reichl, C., I. Eine neue Reaktion auf Eiweißkörper. (Sitzungsber. d. Kais. Akad. d. Wiss. in Wien. (Monatshefte f. Chemie 1889, Bd. X, p. 317.)
- Reichl, C. und Mikosch, C., I. Über Eiweißreaktionen und deren mikrochem. Anwendung. (Jahrb. d. k. k. Ö. Realschule i. II. Bez. v. Wien 1890.)
- Reinitzer, F., I. Über die wahre Natur des Gummiferments. (Ztschr. f. physiol. Chemie 1890, Bd. XIV, p. 453.)
- , II. Über die Enzyme des Akaziegummi usw. (Ebenda 1909, Bd. LXXI, p. 352.)
- , III. Erwiderung betreffend die Enzyme des Akaziegummi. (Ebenda 1910, Bd. LXXIV, p. 104.)
- Röhrmann und Spitzer, I. Über Oxydationswirkungen tierischer Gewebe. (Ber. d. chem. Ges. 1895, Bd. XXVIII, p. 567.)
- Rosoll, A., I. Über den mikrochemischen Nachweis des Curcumins und Coniins in den veget. Geweben. (29. Jahresber. d. niederöstr. Landes-Ober-Realschule usw. in Wiener-Neustadt 1894.)
- , II. Über den mikrochemischen Nachweis der Glykoside und Alkaloide in den veget. Geweben. 1889/90. (25. Jahresber. d. niederöstr. Landes-Realgymnasiums zu Stockerau usw.)
- Ranquist, C., I. Mikrochemische Untersuchung der Radix Colombo (Schweiz. Wochenschr. f. Chemie u. Pharmazie 1901, 280. Ref. Justs bot. Jahresber. 1901, Bd. II, p. 86.)
- , II. Über den Sitz und die Verteilung der Alkaloide in Veratrum album. (Pharm. Post [Wien] 1901, Jg. 34, p. 117.)
- Russel, N. W., I. Recherches sur la localisation de la Taxine chez Pin. (Assoc. franc. pour l'Avanc. des Sc. 31. sess. Montauban 1902, p. 693. (Ref. Ztschr. f. wiss. Mikroskopie 1904, Bd. XXI, p. 528.)
- Schauschildt, J., I. Über die mikrochemische Reaktion des Solanin. (Ztschr. f. wiss. Mikroskopie 1881, Bd. I, p. 61.)
- Schweidler, J. H., I. Die systematische Bedeutung der Eiweiß- oder Myrosinzellen der Cruciferen usw. (Ber. d. Deutsch. bot. Ges. 1905, Bd. XXIII, p. 274.)
- Schmidt, J., I. Pflanzenalkaloide. (Abderhaldens Biochem. Handlex. 1911, Bd. V, p. 402.)
- Schwarz, F., I. Die morphologische und chemische Zusammensetzung des Protoplasmas. (Cohns Beitr. z. Biologie d. Pflanzen. Breslau 1892.)
- Sim-Jensen, I. Beitr. z. botan. u. pharmakogn. Kenntnis v. Hyoscyamus niger L. Stuttgart 1901.
- Solereder, H., I. Systematische Anatomie der Dicotyledonen. Stuttgart 1899, p. 70, 83, 90.
- Spatzier, W., I. Über das Auftreten und die physiologische Bedeutung des Myrosins in der Pflanze. (Jahrb. f. wiss. Bot. 1903, Bd. XXV, p. 71.)
- Suzuki, U., I. On the localisation of theine in the tea leaves. (The Bull. of the college of Agric. Imp. Univ. Tokyo 1901, Vol. IV, p. 207.)
- Toni, G. B. de, I. Ricerche istochimiche preliminari sulla pianta del tabacco. (Justs bot. Jahrb. 1893, Bd. I, p. 323.)
- Tschirch-Osterle, I. Anatom. Atlas d. Pharmakognosie und Nahrungsmittelkunde. Leipzig 1895—98.

- Tchircb, A., I. Die Harze und Harzbehälter usw. Leipzig 1906, Bd. I, p. 883.
- Tunmann, O., I. Beitr. zur Mikrochemie einiger Wurzelorganen. (Handelsber. v. Jahn u. Comp., Dresden 1912, p. 165.)
- , II. Über die Alkaloide in *Strychnos Nux vomica* L. während der Keimung. (Arch. d. Pharm. Berlin 1910, Bd. CCXLVIII, p. 644.)
- , III. Über mikrochem. Alkaloidfällungen mit Chlorzinkjodlösung. (Apoth.-Ztg. Berlin 1917, p. 76.)
- , IV. Mikrochem. Spartein-Reaktionen. (Ebenda p. 100.)
- , V. Der Piperinnachweis bei der Erkennung des Pfefferpulvers. (Ebenda 1918, p. 353.)
- Vanderlinden, E., I. Recherches microchim. sur la présence des alcaloïdes et des glycosides dans la famille des Ranunculacées. (Recueil de l'Institut. bot. Univ. de Bruxelles 1902, T. V, p. 135.)
- Wasicky, R., I. Der mikrochem. Nachweis von Strychnin und Brucin im Samen von *Strychnos nux vomica* L. (Ztschr. d. Allgem. österr. Apotheker-Vereins Wien 1914.)
- , II. Die Anwendung mikrochem. Methoden zur Prüfung der Arzneikörper. (Ztschr. d. Allg. österr. Apotheker-Vereins 1919, Nr. 2.)
- Weevers, Th., I. Die physiologische Bedeutung des Kaffees und des Theobromins. (Extr. d. Ann. d. Jard. Bot. de Buitenzorg 1907, 2. sér., Vol. VI, p. 1.)
- , II. Bemerkungen über die physiologische Bedeutung des Kaffees. (Ebenda, 1910, Vol. IX, p. 18.)
- Wévié, A. de, I. Localisation de l'atropine. (Bull. Soc. Belge de Microsc. 1887 T. XIII, p. 19. Ref. Ztschr. f. wiss. Mikroskopie 1888, Bd. V, p. 119.)
- , II. Sur l'alcaloïde des Narcisses. (Recueil de l'Institut Bot. [Univers. d. Bruxelles] 1906, T. II, p. 229.)
- , III. Recherches sur la technique microchimique des albuminoïdes. (Bull. de la Soc. Belge de Microsc. 1894, Année 20, p. 91. Ref. Ztschr. f. wiss. Mikroskopie 1891, Bd. XI, p. 407.)
- Wiesner, J., I. Über das Gummiferment, ein neues diastatisches Enzym usw. (Sitzungsber. d. Kais. Akad. d. Wiss. in Wien 1885, Bd. XCII, Abt. I, p. 41.)
- Wildemann, E., I. Présence et localisation d'un alcaloïde dans quelques Orchidées. (Recueil de l'Institut. Bot. [Univers. Bruxelles] 1906 T. II, p. 337.)
- Winterstein, E. und Trier, G., I. Die Alkaloide. Berlin 1910.
- Wothschall, E., I. Über die mikrochemischen Reaktionen des Solanins. (Zeitschrift f. wiss. Mikroskopie 1888, Bd. V, p. 19 und 182.)
- Wurster, C., I. Über einige empfindliche Reagentien zum Nachweis minimaler Mengen aktiven Sauerstoffes. (Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 1886, Jg. 19, p. 3195.)
- Zacharias, E., I. Über Eiweiß, Nuklein und Plastin. (Bot. Ztg. 1883.)
- , II. Über die chemische Beschaffenheit des Zellkerns. (Ebenda 1881, Jg. 39, p. 170.)
- , III. Über den Zellkern. (Ebenda 1882, Jg. 40, p. 61.)
- , IV. Über die chemische Beschaffenheit von Cytoplasma und Zellkern. (Ber. d. Deutsch. bot. Ges. 1892, Bd. XI.)
- Zimmermann, A., I. Die botanische Mikrotechnik. Tübingen 1892.
- Zopf, W., I. Über die Gerbstoff- und Anthocyanbehälter der Fumariaceen und einiger anderer Pflanzen. Kassel 1883. (Bibliotheca Botanica.)
- , II. Zur physiologischen Deutung der Fumariaceen-Behälter. (Ber. d. Deutsch. bot. Ges. 1891, Bd. IX, p. 107.)

11

11

C.

# I. DIE ZELLHAUT.



## C.

# I. Die Zellhaut.

Die pflanzliche Zellmembran stellt kein chemisches Individuum, sondern fast immer einen Komplex von mehreren verschiedenen organischen Verbindungen dar, denen auch mineralische beigemengt sein können. Schon aus der Erwägung, daß sehr heterogene Stoffe auf ihrer Wanderung von Zelle zu Zelle die Zellhaut passieren müssen, folgt, daß Bestandteile der wandernden Lösung zurückbehalten und dann in der Membran deponiert werden können. Ebenso können beim Absterben der Zelle Stoffe nachträglich aus dem Zellinhalt aufgenommen und absorbiert werden. Aber häufig treten unter dem Einfluß des Plasmas chemische Reaktionen in der Membran selbst ein, die zur Entstehung neuer Stoffe oder zur Umwandlung bereits vorhandener führen und dann jenen chemischen Zustand bedingen, den man als Verholzung, Verkorkung, Verschleimung usw. bezeichnet.

Je weiter die Forschung vorschreitet, desto mehr zeigt sich, daß die Zusammensetzung der Zellhaut eine ungemein komplizierte ist, ich erinnere nur an die wichtigen und noch zu wenig beachteten Versuche und Beobachtungen HANSTEEN CHANNERS (I), nach denen die vegetative Zellhaut der Phanerogamen regelmäßig auch Phosphatide enthält.

Um die Mikrochemie der vegetabilischen Zellhaut zu behandeln, könnte man die einzelnen Bestandteile entweder in den betreffenden chemischen Abteilungen unterbringen, Zellulose, Gummi und Pektin bei den Kohlehydraten, das Suberin bei den Fetten, das Lignin bei den Aldehyden und anderen Stoffen, oder man behandelt die die Membran aufbauenden Körper im Zusammenhange, unbekümmert um die chemische Systematik. Der letztere Weg scheint mir der praktischere und übersichtlichere und deshalb soll er auch hier eingeschlagen werden.

## 1. Die Zellulosegruppe.

Die eigentliche oder echte Zellulose bildet bei den meisten Pflanzen das Grundgerüst der vegetabilischen Zellhaut. Sie ist ein Kohlehydrat, eine Polyose von der Formel  $(C_6H_{10}O_5)_x$ , die sich durch ihre große Resistenz und Unlöslichkeit in verschiedenen Chemikalien auszeichnet. Eine frisch bereitete Lösung von Kupferoxydammoniak ist das einzige Lösungsmittel, das man für diese Zellulose kennt.

Die Zellulosen lassen sich in zwei Gruppen teilen: die echten Zellulosen und die Hemizellulosen. Die echten umfassen alle jene Zellulosen, die relativ schwer hydrolysierbar sind und bei der Hydrolyse nur Glykose liefern, die mit dem Disaccharid Cellose zu einem größeren Komplex verknüpft ist. Die Hemizellulosen lassen sich hingegen viel leichter hydrolysieren und geben dabei gewöhnlich neben

Glykose und anderen Hexosen häufig auch Pentosen und erscheinen meist im Samen als Reservestoff deponiert, dienen hier also einer wesentlich anderen biologischen Aufgabe als die mechanisch wirksame echte Zellulose. Die Hemizellulosen sind alle bei 300° in Glycerin löslich.

#### a) Echte Zellulosen.

##### Nachweis.

In den Membranen, die aus ziemlich reiner Zellulose bestehen (Sonnenblumenmark, Leinenfaser, Baumwolle usw.) kann die Zellulose durch folgende Mittel nachgewiesen werden:

1. Löslichkeit in Kupferoxydammoniak. Zellulose löst sich nach Aufquellung in Kupferoxydammoniak (vgl. p. 19). Durch Säuren, Alkalien, Salze, entwässernde Mittel, Alkohol und Zucker kann die Zellulose wieder gefällt werden. Chemisch nicht veränderte Zellulose erweist sich in den gewöhnlichen Lösungsmitteln und verdünnten Reagentien als unlöslich.

2. In konzentrierter Schwefelsäure verschwindet Zellulose unter Hydrolyse.

3. Mit Jod und Schwefelsäure färbt sich die Zellulose unter bedeutender Aufquellung tiefblau. Die Schnitte werden zunächst mit einer wässrigen Jodkaliumlösung ( $\frac{1}{3}\%$  Jod +  $1\frac{1}{3}\%$  Jodkalium) durchtränkt und dann mit einem Tropfen konzentrierter Schwefelsäure (2 T. Schwefelsäure + 1 T. Wasser) versetzt. Die Schwefelsäure verwandelt die Zellulose in eine stark quellbare Substanz (Amyloid), welche Jod mit blauer Farbe speichert.

4. Chlorzinkjod (vgl. p. 18) färbt Zellulose blau bis violett. Das Reagens wirkt am besten, wenn es nicht verdünnt wird und die Wände von Wasser durchtränkt sind. Ein Überschuß von Wasser ist zu vermeiden. Nowoprowsky (I) empfiehlt, um die mit seinem Chlorzinkjod (vgl. p. 19) erzielte Blaufärbung zu verstärken, Jodjodkaliumlösung ( $1\%$  Jod +  $1\%$  Jodkali) beizufügen<sup>1)</sup>.

1) Es ist von Interesse, daß sich nach Molisch (VII) auch gewisse Karbonate (Natrium-, Kalium-, Lithium-, Ammonium-, Silber- und Bariumkarbonat) und Kaliumnitrat, wenn sie in fester Form angewendet werden, mit Chlorzinkjod blauen. Fügt man z. B. zu einem Korallen Soda einen Tropfen Chlorzinkjod, so sieht man unmittelbar darauf im Mikroskope lebhaft Gasblasenentwicklung und die Bildung eines flockig hantigen Niederschlages, der sich samt den Sodateilchen intensiv violett bis blau färbt. Beim Zusammenkommen des Chlorzinkjods mit dem alkalisch reagierenden Karbonat entsteht gelartiges basisches Zinkkarbonat bzw. Zinkoxydhydrat, in dem wie in einer festen Lösung Jod in blauer Farbe eingelagert wird. Nach dem Gesagten darf man sich nicht wundern, daß auch viele Pflanzenaschen sich mit dem genannten Jodpräparat bläuen. Aschen, die der Hauptmasse nach aus Kali-, Natrium- und Magnesiumkarbonat bestehen, bläuen sich teilweise oder ganz. Auch Kristalle von Kalkoxalat (Sambucus nigra-Kristallsandzellen), die bei der Versetzung in Kalkkarbonat oder Kalziumoxyd übergehen, und Zystolithen erfahren oft mit Chlorzinkjod eine Bläue, doch nicht immer; verschiedene Aschen verhalten sich darin sehr verschieden (Molisch, VII).

DISCHENDORFER (I) hat den chemischen Vorgang meiner Reaktion genauer verfolgt und kommt im wesentlichen zu denselben Anschauungen wie ich.

5. Chlorecalciumjodlösung, Jodzinnchlorid und Jodphosphorsäure (vgl. p. 19) wirken ähnlich wie Chlorzinkjod.

6. Farbstoffe. Gewisse Farbstoffe färben vorzugsweise nur die aus reiner Zellulose bestehenden Membranen.

a) Hämatoxylinlösung (vgl. p. 21) färbt, abgesehen vom Zellkern und plasmatischen Teilen, reine Zellulosemembranen intensiv violett, hingegen die verholzten und verkorkten zunächst nicht oder nach längerer Einwirkung gelb bis braun (GILTAY I). Auch die sogenannte BÖHMERSCHE und DELAFIELDSCHE Hämatoxylinlösung (vgl. p. 22) kann dieselben Dienste leisten.

β) Kongorot in konzentrierter wässriger Lösung färbt nach ZIMMERMANN (I, 139) junge Zellhäute bei 24stündiger Einwirkung rot, und KLEBS (I) bediente sich dieses Farbstoffes, gelöst in Zucker, um Zellulosehäute *intra vitam* der Zelle zu färben.

MANGIN (V) empfiehlt folgende Azofarbstoffe für die direkte Färbung der Zellulose. Schwach wirken in saurem oder neutralem Bade Orceillin BB, Brillant-Crocein, Scharlach-Crocein, Naphthol-schwarz, stark färben in alkalischem Bade Benzidin-, Toluidin- und Xylidin-farbstoffe, Kongorot, Kongo-Korinth, Heliotrop, Benzopurpurine, Delta-purpurine und verschiedene Sorten Azoblau, Azoviolett und Benzoazurin. Die genannten Farbstoffe wirken indessen nur sofort und leicht auf die Membranen, die der Hydrozellulose nahestehen, also auf Bastzellen, ruhende Kambialzellen, Wurzelhaubenzellen usw. Sie färben aber sofort alle Zellulosehäute, die vorher mit Alkalien behandelt wurden.

7. Kristallisation. GILSON (I) ist es gelungen, die Zellulose zur Kristallisation zu bringen. Die Schnitte werden 12 Stunden oder länger in einem verschließbaren Gefäß in Kupferoxydammoniaklösung eingelegt. Die Kupferlösung wird dann von den am Boden liegenden Schnitten abgossen und durch Ammoniak ersetzt, nach einer halben Stunde wieder erneuert und dies so lange fortgesetzt, bis die Schnitte farblos geworden sind. Nun werden sie mit destilliertem Wasser gewaschen und eventuell mit verdünnter Salz- und Essigsäure aufgestellt. — Um schöne Kristalle zu erhalten, ist es zweckmäßig, den Zellinhalt vorher möglichst zu entfernen. GILSON behandelt zu diesem Zwecke mit 1–2proz. Kalilauge oder JAVELLEScher Lauge und wäscht dann mit destilliertem Wasser nach. Fette werden durch Äther entfernt. Stärkereiche Objekte sind zu vermeiden. Die Zellulosekristalle liegen meist der Wand an, bilden sternartige Aggregate, Kugeln oder Sphärite (Fig. 103). Sie sind unlöslich in verdünnten Säuren und Alkalien, jedoch löslich in Kupferoxydammoniak. Chlorzinkjod färbt blauviolett, Kongorot intensiv rot.

Die Zellulose-Reaktionen treten nur deutlich auf, wenn die betreffenden Zellhäute nahezu aus reiner Zellulose bestehen. Sind sie verholzt, verkorkt, kutikularisiert oder hochgradig mineralisiert, so versagen die Reaktionen mehr oder minder. Sie können aber auch in solchen Membranen eintreten, wenn man die neben der Zellulose vorkommenden Stoffe zerstört oder wegschafft. Werden z. B. verholzte Zellhäute längere Zeit mit Kalilauge, aus de Javelle oder mit SCHULZE Gemisch behandelt, so treten hierauf die Reaktionen prompt auf. Sie färben sich dann mit Chlorzinkjod tiefviolett und mit Jod und Schwefelsäure blau. Über Fälle des Ausbleibens der Zellulosereaktion, ihre Ursachen



und über Beispiele abnormen Auftretens von Zellulose vergleiche man die Übersicht bei RICHTER (I, 372).

Die Sphärrokristalle aus der Membran der *Caulerpa* haben mit den von GILSON gewonnenen Sphäriten der Zellulose eine gewisse Ähnlichkeit und sollen deshalb hier erwähnt werden.

CORRENS (I) hat gefunden, daß die Membran von *Caulerpa*, wenn sie mit ziemlich konzentrierter Schwefelsäure behandelt und dann zur richtigen, nicht nach zu kurzer Zeit, Wasser hinzugefügt wird, in ein Haufwerk großer farbloser Körner verwandelt wird. Die dicken *Caulerpa*-Membranen der Stämmchen und des Blattes eignen sich am besten dazu. Es ist zweckmäßig, ohne Deckglas zu arbeiten und das Wasser dann zuzusetzen, wenn an den Membranquerschnitten die Schichtung nicht mehr zu sehen ist. Unter den Körnern kann man einfache und zusammengesetzte von verschiedener Größe (10 bis 60  $\mu$ ) unterscheiden. Sie sind alle quellbar, manchmal radial gestreift, zeigen

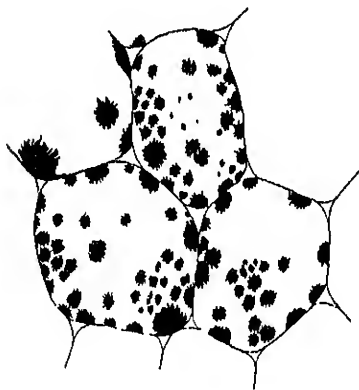


Fig. 103.

Zellulosekristalle, gewonnen nach GILSON, an den Wänden des Wurzelparenchyms vom Radieschen (*Raphanus sativus*). Vergr. 250.

Doppelbrechung und entstehen aus der durch die Einwirkung der Schwefelsäure modifizierten Hauptmasse der Membransubstanz. Die Sphärite — als solche sind die Körner zu bezeichnen — zeigen nicht die Reaktionen der Zellulose, lösen sich aber in Kupferoxydammoniak, schon in 12proz. Natronlauge, in konzentrierter Essigsäure und rauchender Salpetersäure. CORRENS konnte bei allen untersuchten *Caulerpa*-Arten und auch bei zwei *Bryopsis*-Arten die erwähnten Sphärite gewinnen, was in systematischer Beziehung von Wichtigkeit ist.

Die chemische Zusammensetzung der *Caulerpa*-Membran wurde genauer von MIRAUDÉ (I) verfolgt. Er konnte zeigen, daß sie in merkbarer Menge weder Zellulose noch Chitin enthält,

wohl aber in großer Quantität Pektin und Callose. Über die Verbreitung der Callose vergleiche man auch p. 352.

#### b) Hemizellulosen.

Insbesondere in Pflanzensamen und Fruchtschalen, im Holzkörper und in der Rinde der Bäume kommen neben echter Zellulose sogen. Hemizellulosen vor (vgl. p. 335). Sie lösen sich im Gegensatz zu echter Zellulose leicht in kochenden verdünnten Säuren, z. B. 1proz. Salzsäure, geben bald die bekannten Jod-Zellulosereaktionen, bald nicht oder färben sich mit Jod schon allein blau. Ihrer verschiedenen chemischen Zusammensetzung entsprechend liefern sie Dextrose, Mannose, Galaktose oder Gemische von diesen, zuweilen noch Xylose oder Arabinose und nach diesen Spaltungsprodukten werden sie als Dextrane, Mannane, Galaktane, Manno-Galaktane, Galakto-Arabane usw. unterschieden (GRAFE I, 43). Sehr häufig werden Hemizellulosen in den Zellwänden deponiert und spielen hier die Rolle eines Reservestoffs, da sie

bei der Keimung aufgelöst und gleich der Stärke als Baustoff verwendet werden (REISS I; SCHULZE I. 355).

In den Wänden der Samenschalen kommen aber auch Hemizellulosen vor, die bei der Keimung keine Verwendung finden, es braucht sich daher der Begriff Reservezellulose und Hemizellulose nicht zu decken. — Im Endosperm von *Phoenix dactylifera*, *Phytolapha*, *Liliaceen*, *Irideen*, im Samen von *Leguminosen* werden die Hemizellulosen in großen Mengen als Reservestoff abgelagert. Bei der Keimung kann man ihre Auflösung in den Wänden mikroskopisch verfolgen. Ebenso geht aus den Untersuchungen von SCHIELLENBERG (I) hervor, daß die Innenlamellen der Librifasern häufig aus Hemizellulosen bestehen und, wenn die Fasern noch lebendes Plasma enthalten, im Frühjahr aufgelöst werden können (*Vitis vinifera*, *Robinia Pseudacacia* usw.). Auch im Parenchym der primären Rinde (*Birke*, *Erle*, *Haselnuß* usw.) und im Parenchym des Leptoms (*Vitis vinifera*, *Alnus glutinosa*, *Betula verrucosa*) konnten im Frühjahr an den Wänden Auflösungserscheinungen beobachtet werden. Alle diese Membranschichten bestehen aus Hemizellulosen und können mikrochemisch dadurch nachgewiesen werden, daß sie sich in verdünnter mineralischer Säure (3 proz. Schwefelsäure) lösen. Echte Zellulose bleibt unter diesen Umständen ungelöst zurück.

Mikrochemische Reaktionen zur Unterscheidung der einzelnen Hemizellulosen kennt man leider derzeit nicht. Es seien daher nur folgende Hemizellulosen hervorgehoben.

#### Amyloid.

Die Zellwände zahlreicher Samen werden durch Jod direkt blau. Die sich bläuende Substanz wird als Amyloid bezeichnet. WINTERSTEIN (I) hat diesen Körper aus den Samen von *Tropaeolum majus*, *Paeonia officinalis* und *Impatiens Balsamina* durch 1stündiges Kochen mit destilliertem Wasser extrahiert und durch Fällen mit Alkohol als farblose Gallerte gewonnen. Sie trocknet über Schwefelsäure zu einer amorphen Masse ein, quillt mit Wasser auf, bildet mit kochendem Wasser eine schleimige, schwer bewegliche und etwas opalisierende Masse. Diese färbt sich mit Jod blau. In Kupferoxydammoniak löst sich das Amyloid nach einem Tage, wird aber im Gegensatz zu Zellulose durch Säuren nicht abgeschieden, wohl aber durch Alkohol. Das Amyloid enthält reichlich Galaktoarabane (WINTERSTEIN I), es ist also von der Stärke vielmehr verschieden, als man früher angenommen hat.

Bei *Impatiens Balsamina*, wo HEINRICHER (I) das Vorkommen von Amyloid genauer verfolgt hat, sind die Mesophyllzellen des Keim-

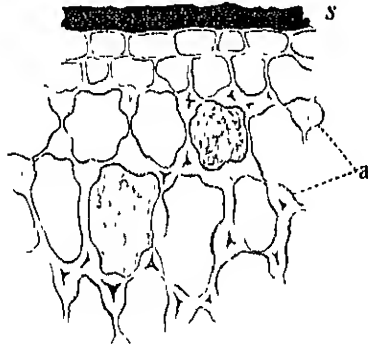


Fig. 104  
*Impatiens Balsamina* Teil eines  
Querschnittes des Samens

„Samenschale Die kollenchymatische  
erscheinenden Wandverdickungen“  
des Keimblattgewebes bestehen aus  
Amyloid (Reservezellulose)  
Veget. 250.

blattes eigenartig ungleichmäßig verdickt. Die Verdickungen konzentrieren sich vorwiegend auf die Zellecken, wodurch das Gewebe einen kollenchymatischen Charakter erhält (Fig. 104). In konzentrierter Schwefelsäure lösen sich die Wände unter Aufquellung mit Ausnahme der Mittellamellen auf, desgleichen in konzentrierter Salz- und Salpetersäure, hier aber langsamer. In Jodtinktur und Chlorzinkjod tritt bei *Impatiens* B. keine Blaufärbung ein, wohl aber in Jodjodkalium. Färben sich darin die Wände braun bis braunschwarz, so verdünne man mit Wasser. Es erscheint dann die blaue Farbe. In Kupferoxydammoniak quellen die Wände stark auf, mit Kongorot färben sie sich intensiv rot. Da sie bei der Keimung größtenteils aufgelöst werden, spielen sie zweifellos die Rolle einer Reservezellulose.

Abgesehen von diesem Reserve-Amyloid gibt es aber noch eines, das nicht als Reservestoff, sondern als Zwischenprodukt beim Aufbau der Zellhaut zu fungieren scheint. Auf die weite Verbreitung dieses Amyloids hat ZIEGENSPECK (1) aufmerksam gemacht. Wenn Querschnitte durch den Stamm von *Lycopodium clavatum* und anderen Arten dieser Gattung in Jodjodkaliumlösung eingelegt werden, so färben sich die Wände des ganzen Siebteils, besonders aber die der Siebröhren blau. Die anderen Lycopodiaceen (*Psilotum*, *Selaginella*), die Equiseten, Polypodiaceen, Osmundaceen, Ophioglossen und Hydropteriden verhalten sich insofern anders, als hier der erwähnte Stoff nur in jungen, noch wachsenden Anteilen auftritt und sich durchaus nicht auf den Siebteil beschränkt. Junge Nadeln und Triebe von Gymnospermen zeigen die Bläunung gleichfalls. Von Monokotylen eignen sich zur Demonstration besonders die Grasknoten und das noch weiche, interkalar wachsende Internodium. Bei den Dikotylen liegen die Verhältnisse verschieden. Hier wurde das Amyloid im Weichbast vermist (*Ampelopsis*, *Filix*, *Corylus*, *Quercus*, *Aristolochia*), oder es blauen sich die Siebröhren besonders stark, während das angrenzende Gewebe sich nicht oder kaum bläut, wobei aber zu bemerken ist, daß jüngste und älteste Stummteile die Bläunung vermissen lassen. In vielen Kollenchymen finden sich zwischen den aneinanderstoßenden Zellen die bekannten Zwickel, die von BUSCALIONI als „ähnlich den Oxalatkristallen in Zellulosehüllen eingeschlossene Stärkekörner“ beschrieben wurden. Sie sind z. B. an nicht zu alten Blattstielen von *Tropaeolum* sehr gut zu beobachten. Diese Zwickel bläuen sich mit Jodjodkalium, haben aber mit Stärkekörnern nichts zu tun, sie sind eben Amyloidzwickel.

ZIEGENSPECK rechnet die von ihm beobachteten Amyloide zu den Hydrozellulosen, die bei der Fertigstellung der Zellhaut als Zwischenprodukte auftreten.

### Amylomycin.

Gewisse Pilzmembranen werden mit Jod direkt blau: die Schlauchspitzen zahlreicher Disco- und mancher Pyrenomyceten (*Sordaria*, *Sphaeria*), die Hyphen von *Dematium pullulans*, die Sporenhäute von *Schizosaccharomyces octosporus* usw. (ČAPEK I, 513). Ob die die Blaufärbung bedingende, von CRÉ (1) Amylomycin benannte Substanz Amyloid oder etwas anderes ist, bleibt vorläufig völlig zweifelhaft.

### Geasterin.

Bei *Geaster forficatus* konnte WISSELINGH (I, 654) an den Hyphen des Peridiums und des Kapillitiums mit Jodjodkaliumlösung und Schwefelsäure und mit Jodjodkaliumlösung und Chlorzinkjod bisweilen eine Blaufärbung beobachten. Die Membransubstanz löst sich in Gly-

zerin unter  $250^{\circ}$  auf, kann daher keine echte<sub>4</sub> Zellulose sein. Er nennt diese Substanz Geasterin.

### Usnein.

WISSEINGH (1, 654) fand bei *Usnea barbata* in den Hyphenmembranen, besonders des axilen Stranges, einen Stoff, der durch Jodjodkaliumlösung und Schwefelsäure mäßig violett gefärbt und Usnein genannt wurde. Zwischen den Hyphen des Stranges findet sich eine Art Interzellulärschubstanz vor, die sich mit Jod und Schwefelsäure noch stärker als die Hyphen färbt. In Glyzerin auf  $300^{\circ}$  erhitzt, löst sich das Usnein auf.

### 2. Chitin.

Wenn man die gewöhnlichen Zellulosereaktionen auf die Zellwände der Pilze anwendet, so erhält man sehr verschiedene Resultate. Manche geben die Reaktionen, einzelne färben sich mit Jodlösung direkt blau, die meisten aber geben die Zellulosereaktion nicht und färben sich mit den Jod-Zellulose-Reagentien gelb bis braun. Das war der Grund, warum de BARY (1, II) in den Pilzmembranen eine besondere Zellulose annahm und sie mit dem Namen „Pilzzellulose“ belegte. Demgegenüber suchte K. RINTNER (1) zu zeigen, daß die Pilze keine besondere, sondern gewöhnliche Zellulose enthalten und daß die Pilzmembranen nur deshalb die Zellulosereaktionen nicht geben, weil sie mit anderen Stoffen, vielleicht mit eiweißartigen Substanzen inkrustiert sind. Er stützt sich dabei auf die Tatsache, daß die Pilze, die die gewöhnlichen Zellulosereaktionen nicht geben, dennoch auf Zellulose reagieren, wenn man sie vorher einer längeren Mazeration in 7 Proz. Kalilösung 2–3 Wochen bis 2–3 Monate unterwirft und dann prüft. Heute weiß man auf Grund der wichtigen Arbeiten namentlich von GILSON, WINTERSTEIN, IWANOFF und WISSEINGH (1), daß die Pilze, die direkt keine Zellulosereaktionen geben, und dazu gehört die große Mehrzahl weder eine Pilzzellulose noch gewöhnliche Zellulose führen, sondern an Stelle der Zellulose Chitin enthalten, einen Stoff, der im Tierreiche bei der Skelettbildung der Arthropoden eine große Rolle spielt.

Eigenschaften des Chitins. Die Zusammensetzung dieses stickstoffhaltigen Körpers ist noch zweifelhaft; nach ARAKI soll ihm die Formel  $C_{18}H_{30}N_2O_{12}$ , nach IVONNE  $C_{30}H_{50}O_{19}N_4$  und nach BRACH  $(C_{32}H_{51}N_1O_{21})_x$  zukommen. Bei Behandlung mit Ätzkali und wenig Wasser bei  $180^{\circ}$  (als Maximum) gibt Chitin unter anderem Chitosan (Mykosin),  $C_{14}H_{26}N_2O_{10}$  und Essigsäure. Und Chitosan liefert beim Kochen mit konzentrierter Salzsäure Glukosamin,  $C_6H_{13}NO_5$ , und Essigsäure.

Chitin ist unlöslich in Wasser und organischen Lösungsmitteln, löslich in konzentrierter Salzsäure und Schwefelsäure unter Braunfärbung. Wirkt die Salzsäure lange ein, erfolgt Hydrolyse unter Glukosaminbildung. Jodlösung färbt Chitin bräunlich, auf Zusatz von Schwefelsäure geht der Farbenton ins Rötliche, manchmal ins Violette über, welche Färbung durch Kochsalz verstärkt wird. Chlorzinkjod färbt violett, wenn es wenig Jod enthält.

Viel intensivere Färbungen gibt das Spaltungsprodukt, das Chitosan (Mykosin GILSONS), mit Jodpräparaten. Es färbt sich mit ver-

dünnter Jodlösung intensiv violett, welche Farbe auch bei anhaltendem Waschen nicht verschwindet. Jodjodkalium + Chlorzinkjod färbt Chitosan rotviolett, Brom scharlachrot (G. ZEMPLEN I).

Der mikrochemische Nachweis des Chitins wurde von WISSE-LINGH (I, 637, II) geführt. Er stützt sich dabei auf die von GILSON gefundene Tatsache, daß Chitin durch Erwärmung mit Kalilauge bis auf  $180^{\circ}$  in Chitosan (Mykosen) übergeführt wird und dieses sich durch Jodjodkaliumlösung, die eine Spur freier Säure enthält, rötlich-violett färbt. Die Pilzprobe wird mit konzentrierter Kalilauge im zugeschmolzenen Glasrohr im Ölbad bis auf  $180^{\circ}$  C erwärmt, dann mit 90proz. Alkohol ausgewaschen und hierauf mit Jodjodkaliumlösung und verdünnter Schwefelsäure (1—47proz.) unterm Deckglas untersucht. Bei Gegenwart von Chitin nehmen die Zellwände eine schön violette Farbe an. Konzentrierte Schwefelsäure ist zu vermeiden, da sie die bereits eingetretene Reaktion verschwinden macht. Auch die Jodlösung soll nicht viel Jod ( $1/5$ —1%) enthalten. Eine Lösung von 0,2 Jod und zwei Teilen Jodkali auf 100 Teile Wasser wirkt günstig.

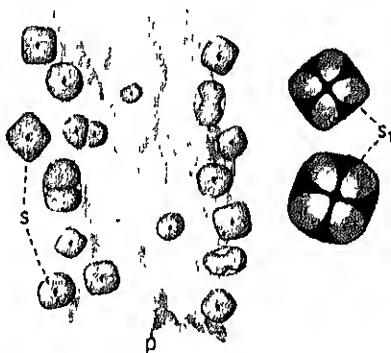


Fig. 105.  
Chitosansphäriten. s aus Lepiota  
(Parasolpilz), s<sub>1</sub> im polar. Licht. p Pilz-  
masse. Vergr. 150 u 460.

Chitosanhaltige Wände nehmen nach Behandlung mit Jodjodkaliumlösung und einer schwachen Chlorzinkjodlösung eine rötlich-violette Färbung an. Die Benutzung einer stärkeren Chlorzinkjodlösung mit 40—60% Chlorzink bewirkt eine blauviolette bis blaue Färbung, die Benutzung einer noch stärkeren veranlaßt Entfärbung.

Nach VOUK (I) genügt, um die Umwandlung des Chitins in Chitosan zu erzielen, auch schon Erhitzen des Materiales auf  $110^{\circ}$  durch 20 bis 30 Minuten in konzentrierter Kalilauge in einem mit

einem Uhrglas bedeckten Becherglas.

BRUNSWIK (I) hat zum mikrochemischen Nachweis des Chitins als willkommene Ergänzung die Fällung von kristallisiertem Chitosannitrat, Chitosansulfat und Chitosanochromat vorgeschlagen und damit gute Resultate erzielt. Er geht dabei in folgender Weise vor: Die zu untersuchenden Teile von Pflanzen oder Tieren werden in der bereits angegebenen Weise in Chitosan umgewandelt. Hierauf wird aus den Schnitten zuerst mit Alkohol, dann mit Wasser die anhaftende Kalilauge ausgewaschen. Wird nun ein stecknadelkopfgroßes Stück in 50proz. Salpetersäure unter Deckglas vorsichtig bis zum Kochen erwärmt, so verschwindet der Schnitt fast völlig, da alles Chitosan als Chitosannitrat in Lösung geht. Will man nun schöne Kristalle von Chitosannitrat erhalten, so muß möglichst langsam abgekühlt werden. Dann verwandeln sich die Schnitte, falls sie Chitin enthalten, in eine Kristallmasse, bestehend aus scheibenförmigen Sphäriten, Dellen und Hantelformen (Fig. 105), die im polarisierten Licht bei genügender Dicke das dunkle

Kreuz zeigen und nach dem Auswaschen der Salpetersäure sich mit Kongorot, Säurefuchsin, Pikrinsäure usw. färben.

In analoger Weise lassen sich auch die Chitosanechromat- und die Chitosansulfatkristalle gewinnen, und die Darstellung der Sulfatkristalle darf besonders empfohlen werden, weil sich damit auch die Jodfarbenreaktion verbinden läßt.

Stets wurden, gleichgültig ob man Pilze oder Tiere (Sepienschulpen, Cikaden oder Canthariden) untersuchte, die gleichen Kristalle erhalten, ein neuer Beweis, daß das Chitin im Pflanzen- und Tierreiche wohl identisch sein dürfte.

#### Vorkommen.

Zellulose kommt in Pilzmembranen verhältnismäßig selten vor, sehr häufig jedoch Chitin. WISSELINGH (I, 684) fand Zellulose bei Myxomyceten (*Didymium squamulosum*), Peronosporen (*Plasmopara densa*, *Cystopus Portulacae*) und Saprolegnien (*Saprolegnia dioica*).

Chitin findet sich bei Myxomyceten mit Ausnahme von *Plasmodiophora Brassicae* nicht vor. Hier treten nach F. WERTSTEIN (I) an Stelle des Chitins und der Zellulose hornartige Stoffe oder Keratine auf (*Plasmodiophora Brassicae*). WISSELINGH wies Chitin bei Chytridiaceen (*Synchytrium Taraxaci*), Entomophthoreen (*Empusa muscae*), Mucorineen (*Mucor Mucedo*, *Chlamydomucor racemosus*, *Pilobolus crystallinus*), Rhizopoen (*Rhizopus nigricans*) und bei fast allen untersuchten höheren Pilzen nach.

Bei den Bakterien, bei *Saccharomyces cerevisiae*, *Fuliga septica* und *Cetraria islandica* fand WISSELINGH weder Zellulose noch Chitin, bei den höheren Pilzen Chitin, aber keine Zellulose und bei den Myxomyceten und Phycomyceten Chitin und Zellulose, aber in keinem einzigen Falle beide nebeneinander.

Die Angabe WISSELINGHUS (I, 684), daß Bakterien Chitin nicht enthalten, wurde zwar von VIERHOEFER (I) bestritten, aber von F. WERTSTEIN bestätigt.

Die Flechten verhalten sich verschieden. Bei einigen fehlt das Chitin ganz (*Cetraria islandica* usw.), im allgemeinen ist es hier in den Hyphen sehr verbreitet.

Nach HEGLER (I) und KOHL (I) sollen auch die Wände zahlreicher Cyanophyceen Chitin enthalten, doch konnte weder WESTER (I, 303) noch KLEIN (I) in den untersuchten Cyanophyceen Chitin nachweisen. Nach KLEIN enthalten die Blaualgenhäute reichlich Pektinstoffe und die Heterocysten sowie die Scheiden der Scytonemaceen Zellulose.

Der Membranstoff Chitin zeigt in seinem Vorkommen oder Fehlen oft deutlich die Verwandtschaft großer Thallophytengruppen an und kann Hand in Hand mit morphologisch-anatomischen Eigenschaften als systematisches Merkmal verwendet werden (WERTSTEIN F. I).

#### 3. Verholzte Membranen.

Zellhaute, die in Kupferoxydammoniak unlöslich sind, die gewöhnliche Zellulosereaktionen nicht oder nur mangelhaft geben, sich mit Phloroglucin-Salzsäure rotviolett und mit schwefelsaurem Anilin gelb färben, bezeichnet man als verholzt. Die Elementarorgane des Holzes, sehr viele Bast-, Mark- und Steinzellen haben verholzte Membranen. Da man mit verholzten Zellhäuten, die längere Zeit mit Kalilauge, SCHULZES Mischung oder Chromsäure behandelt wurden, die Zellulosereaktionen prompt erhält, faßte man früher die verholzte Membran als Zellulosemembran auf, die mit bestimmten Stoffen inkrustiert

sei, und diese wurden als „Holzsubstanz“ oder „Lignin“ bezeichnet. Lignin ist also kein einheitlicher Körper, sondern ein Gemisch. Heute neigt man mehr zu der Ansicht, daß es sich im Lignin nicht um ein mechanisches Gemenge, sondern um eine chemische Bindung zwischen Zellulose und den Komponenten des Lignins handle. Für den

### Nachweis der Holzsubstanz

stehen zahlreiche vortreffliche Farbenreaktionen zur Verfügung, die meist durch Phenole und aromatische Basen vermittelt werden.

1. Anilinsulfatlösung (0,1 g schwefelsaures Anilin + 10 cem  $H_2O$  + 1 Tropfen Schwefelsäure) färbt verholzte Zellwände dottergelb. Salzaures Anilin leistet dieselben Dienste.

2. Phloroglucin + Salzsäure. Ein Tropfen einer wässrigen oder alkoholischen (1—5proz.) Phloroglucinlösung wird auf den Schnitt gebracht und mit konzentrierter Salzsäure behandelt. Verholzte Wände werden kirschrot oder rotviolett.

Diese beiden von WIESNER (I, II) in die Histochemie eingeführten Reaktionen gehören zu den besten, die die botanische Mikrochemie kennt. Sie sind sehr empfindlich, tinktionskräftig und erscheinen ganz lokal. Über die Geschichte der Phloroglucinreaktion vgl. p. 147 und über die der Anilinsulfatprobe vgl. BURGENSTEIN (1, 2. d. Sep.).

3. Indol. Reines Indol wird in warmem Wasser gelöst. Es ist nur in sehr geringer Menge löslich. Mit dieser Lösung werden die Schnitte benetzt, mit dem Deckglas bedeckt und dann 1–2 Tropfen verdünnter Schwefelsäure (1 Vol.  $H_2SO_4$  vom spez. Gew. 1,2 und 4 Vol.  $H_2O$ ) hinzugefügt. Verholzte Zellhäute färben sich dabei kirschrot (NIGEL I).

4. Thallin = Tetrahydro-p-chinanisol -  $C_{10}H_{16}NOCH_2H$ . Verwendet wird eine konzentrierte Lösung des schwefelsauren Salzes dieser aromatischen Base in einer Mischung aus gleichen Teilen Alkohol und Wasser. Man lege die Schnitte zuerst in reinen Alkohol und dann für einige Zeit in ein Uhrschälchen mit dem Reagens. Verholzte Wände werden dunkelorange gelb, während Zellulose und verkorkte Wände ungefärbt bleiben (HUGLER II, 33). Die Thallinlösung ist vor Licht zu schützen, weil sie sonst eine rosarote Färbung annimmt.

5. Kaliumpermanganat. Werden verholzte Membranen einige Zeit in eine Lösung von übermangansaurem Kali gebracht und mit Wasser ausgewaschen, so nehmen sie infolge der oxydierenden Wirkung des Mangansalzes eine gelbe bis braune Farbe an. Auf Zusatz von verdünnter Salzsäure werden sie wieder entfärbt. Setzt man nach dem Auswaschen der Salzsäure Salmiakgeist hinzu, so erscheinen die verholzten Häute weinrot bis tief karminrot. MAIER (I), der Entdecker dieser Holzstoffreaktion, verwendet eine 1proz. Permanganatlösung und läßt die Schnitte 5 Minuten darin liegen. Die Einwirkung der Salzsäure soll 2–3 Minuten währen, das Ammoniak kann auch in Dampfform, am besten gleich am Halse der Ammoniakflasche, einwirken.

Andere Reaktionen. Im Laufe der Zeit sind noch zahlreiche andere Holzstoffreagentien bekannt geworden, sie haben meist nur theoretisches Interesse und sollen daher nur in tabellarischer Übersicht angeführt werden. (Siehe Tabelle p. 345.)

Tabelle  
über die übrigen wichtigeren Holzstoffreaktionen.

Reagens	Anwendung	Färbung der verholzten Membran	Literatur
Phenol . . . .	Eine wässrige konz. Lösung wird mit $KClO_3$ gesättigt und $HCl$ gleichzeitig zugesetzt	blau oder grünblau	von HÜHNEL (I) SINGER (I, 353) MOLISCH (I, 304) MOLISCH (I, 303)
Thymol . . . .			
Resorcin . . . .	Alkohol. Lösung + $HCl$	blaugrün blauviolett	WIESNER (II, 6 d. Separ.) WIESNER (II, 6 d. Separ.)
Brenzkatechin . .	„ „	„	„
Orein . . . . .	„ „	dunkelrot	III. (I)
$\alpha$ -Naphthol . . .	15 % alkohol. Lösung, gleichzeitig mit konz. $HCl$	blaugrün	MOLISCH (I, 305)
Toluyldiamin	Konz. wässrige Lösung + $HCl$	dunkelorange	HIGLER (II, 33)
Skatol . . . . .	Konz. alkohol. Lösung + $HCl$	violett	MATTIROLE (I)
Carbazol . . . .	Einige Min. in die warme konz. alkohol. Lösung, dann zum Schnitt 1 Tropfen $HCl$ oder ein Gemenge von 1 Vol. $H_2SO_4$ u. 1 Vol. $H_2O$	rotviolett	MATTIROLE NICKEL (I, 59)
Metadiamidobenzol . . . .	5 % wässrige Lösung (gelöst in angesäuertem Wasser)	dottergelb gelb bis orangefarb.	MOLISCH (II) SCHNEIDER (I)

Ferner gibt Holz und Salzsäure

mit Guajacol	eine gelbgrüne Färbung	} CZAPKE (I, 567)
„ Kresol	„ grünliche „	
„ Anisol	„ grünlichgelbe „	} CZAPKE (II, 147)
„ Anethol	„ „ „	
„ Paratoluidin	„ gelbe „	} NICKEL (I, 51)
„ Xylidin	„ „ „	
„ $\alpha$ - u. $\beta$ -Naphthylamin	„ „ „	

GERTZ (I) hat darauf aufmerksam gemacht, daß das Anthocyan nicht bloß ein gutes Kernfarbemittel ist, sondern auch zum Nachweis der Verholzung herangezogen werden kann, weil verholzte Zellwände diesen Farbstoff in auffällender Weise speichern. Die Schnitte lassen, wenn sie in eine mit Schwefelsäure angesäuerte, wässrige Anthocyanlösung angelegt werden, die verholzten Zellwände oft schon nach 5—10 Minuten leuchtend purpurrot erscheinen. Behandelt man nach dem Auswaschen die Schnitte mit Bleizetat, so wird der Farbstoff in blauer bis grüner Farbe ausgefällt. Das Anthocyan kann aber nicht als eindeutiges Holzstoffreagens angesehen werden, denn es färbt ja bekanntlich auch den Zellkern, ferner die Eiweißkristalle der Aleuronkörner, gewisse unverholzte Bastfasern, Kollenchymzellen, ja sogar, und zwar besonders stark, Moosmembranen, die, wie auch GERTZ selbst betont, nie verholzen.

Worauf die Färbung der Zellwände mit Anthocyan zurückzuführen ist, ob auf gewisse Stoffe oder, wie GERTZ (I, 25) meint, auf nicht näher bekannte, an spezielle Strukturverhältnisse gebundene Adsorptionsercheinungen, bleibt vorläufig unaufgeklärt.



Von CASPARIS (I) wird Rhodankobalt,  $\text{Co}(\text{SCN})_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ , als Holzstoffreagens empfohlen. Verwendet wird eine wässrige Lösung innerhalb gewisser Konzentrationsgrenzen, nämlich eine solche von roter bis violetter Farbe, entsprechend etwa einem Gehalt von 15–40 %. Werden Schnitte in einen Tropfen dieser Lösung gebracht, so färben sich die verholzten Wände prächtig blau, während die Lösung selbst untern Deckglas nur hellrot erscheint. Wird die Lösung verdünnt, so verschwindet die Färbung, durch Konzentrieren kann sie wieder hervorgerufen werden. Leider färben sich auch andere Zellbestandteile blau, z. B. Stärkekörner und Eiweißkristalle der Aleuronkörner, und da es sich bei dieser Reaktion wohl nur um eine Adsorptionserscheinung handelt, kann hier nicht weiter darauf eingegangen werden.

Begreiflicherweise hat man sich vielfach bemüht, die chemische Zusammensetzung der nichtzellulösen Bestandteile der verholzten Membran, des Lignins, zu eruieren. Mangelte dies unter anderem dadurch zu erreichen, daß man diejenigen Stoffe, die die Holzstoffreaktionen bedingen, ausfindig zu machen suchte. TIEMANN und HAARMANN (I) glaubten, es sei das Coniferin, SINGER (I, 360) betrachtete das Lignin als ein Gemenge von Coniferin, Vanillin und Holzgummi, wodurch die Aufmerksamkeit auf aromatische Aldehyde gelenkt wurde. Für das Vorkommen von aldehydartigen Substanzen im Lignin spricht auch das prompte Eintreten der SCHIFFSchen Aldehydreaktion mit Rosanilin und schwefliger Säure. In der Tat gelang es CZAPK (II), durch kochende Zinnchloridlösung aus dem Holze eine Substanz abzuspalten, die die typischen Holzstoffreaktionen gibt und von ihm als ein aromatischer Aldehyd angesprochen und Hadromal benannt wurde. Nach GRAFE (II, 295) handelt es sich aber bei CZAPKs Hadromal nicht um einen einheitlichen Körper, sondern um ein Gemenge von Vanillin, Methylfurfural, Brenzkatechin und Coniferin, welche Stoffe „zum Teil mit der Zellulose der Membran in ätherartiger Bindung stehen, zum Teil in Harz aufgenommen sind und zum geringsten Teile frei sich in der Membran finden“ (GRAFE, 294). Nach CZAPK (I, 966) könnte es sich bei Brenzkatechin und Vanillin auch um Spaltungsprodukte seines Hadromals handeln. KLASON (I, 38) hingegen ist der Meinung, daß Methylfurfural und Vanillin nicht vorgebildet im Holze vorliegen, Methylfurfural wahrscheinlich ein Zersetzungsprodukt von Kohlehydraten im Holze und Vanillin ein Zersetzungsprodukt von Coniferylalkohol ist. Nach KLASON steht die Hauptmenge des Lignins gleich der Zellulose den kolloiden Stoffen nahe und kann weder als eine chemische Verbindung mit Zellulose noch als ihr Umwandlungsprodukt aufgefaßt werden. Man sieht, die Meinungen über das Lignin gehen so weit auseinander, daß es heute jedem Chemiker schwer fallen muß, sich eine bestimmte Meinung zu bilden.

#### Vorkommen der Verholzung

Es ist von Interesse, daß die Fähigkeit, verholzte Wände zu bilden, sämtlichen Thallophyten und Moosen (GJOKIC I) fehlt, erst in der Reihe der Pteridophyten auftritt (LINSBAUER I) und von hier nach aufwärts allgemein verbreitet erscheint. Die Verholzung ist nicht bloß auf die Elementarorgane des Holzes beschränkt, sondern es können auch Stein-, Bast-, Mark-, Korkzellen sehr häufig, zuweilen auch Epidermiszellen, ja es können sogar die Wurzelhaare mancher Pflanzen (*Hartwegia comosa*, *Sarcanthus rostratus* usw.) (MOLISCH III, 107) und Wurzelepidermiszellen (KROEMER I, 14–17) verholzen.

Nach BURGERSTEIN (I) verholzen sehr früh und zuerst die Gefäße, dann die Holzzellen, das Holzparenchym, die Bastzellen und endlich das Mark. Die Verholzung tritt nur ein unter Vermittlung lebenden Plasmas.

Die biologische Bedeutung der Verholzung kennt man heute mit Sicherheit nicht. Nach SCHULLENBERG (I) wird die Festigkeit der Zellmembran durch die Verholzung nicht verändert, die Leitungsfähigkeit für Wasser nicht größer, sondern die physiologische Bedeutung soll in der Tatsache zu suchen sein, daß eine verholzte Membran kein Wachstum mehr zeigt und daß somit die verholzten Elemente gezwungen sind, sich nicht mehr zu ändern.

#### 4. Verkorkte Membranen und die Kutikula.

##### Verkorkung.

Die Chemie der verkorkten Zellhäute ist noch vielfach unaufgeklärt. Auch hier handelt es sich zweifellos um eine sehr komplizierte Zusammensetzung. Charakteristisch für verkorkte Wände ist ein reicher Gehalt an Fettsäuren, nebenher kommen oft noch aromatische Körper, Gerbstoffe, Phlobaphene und auch Kohlehydrate in Betracht.

Im allgemeinen wird eine Zellwand, die in Kupferoxydammoniak und Chromsäure unlöslich ist, die Zellulosereaktionen direkt nicht zeigt und die bei den v. HORNELschen (s. unten) Reaktionen die sogenannte Kali- und Cerinsäurereaktion gibt, als verkorkt bezeichnet.

CHEVREUL (I) glaubte, daß der Kork durch eine ganz bestimmte, in Wasser und Alkohol unlösliche Substanz ausgezeichnet ist und nannte sie Suberin. Mit demselben Namen bezeichnete v. HORNEL (II, 517) den Stoff in der verkorkten Membran und in der Kutikula, der seine Korkreaktionen gibt.

Einen bedeutenden Fortschritt in der Korkchemie brachte die Arbeit KUGLERS (I). Er wies im Flaschenkork einen in langen Nadeln kristallisierenden, in Alkohol und Äther leicht löslichen Körper, das Cerin ( $C_{20}H_{32}O$ ) nach, der aber eigentlich zum Korkstoff nicht gehört, und glaubte in dem Suberin ein Fett zu erkennen, aus dem er Glycerin, Stearinsäure und eine neue Säure, die Phellonsäure,  $C_{22}H_{42}O_3$ , abgeschieden hat. Mit Salpetersäure behandelt liefert das Suberin die gewöhnlichen Oxydationsprodukte der Fette, darunter auch Korksäure. Hierbei tritt auch Cerinsäure auf, doch ist dies nach KUGLER kein einheitlicher Körper.

GILSON (II) stellte aus Flaschenkork drei Fettsäuren dar, die schon genannte kristallinische Phellonsäure, die amorphe Suberinsäure und die in feinen weißen Nadelchen kristallisierende Phloionsäure. Im Kork von Quercus Suber finden sich nach GILSON 44% rohe Fettsäure, 8% Phellonsäure, 36% Suberinsäure und etwas Phloionsäure.

In welcher Bindung und Form sich die Komponenten des Korks im intakten Gewebe vorfinden, ob als Glycerinester von Fettsäuren (KUGLER), ob als eine Mischung von wenig löslichen zusammengesetzten Estern (GILSON) oder als ein Gemenge von Anhydriden und Polymerisationsprodukten fester und flüssiger Säuren (v. SCHMIDT I, 241), ist eine strittige Frage (ZEISEL I), die erst gelöst werden wird, wenn die Chemie des Korkes eine weitere Vertiefung erfahren haben wird.

## Nachweis.

1. Kalireaktion. Bringt man auf ein verkorktes Gewebe konzentrierte Kalilauge, so färbt es sich unter kaum merklicher Quellung zunächst gelb. Erwärmt man gelinde über dem Mikrobrenner, so wird die verkorkte Membran stärker gelb, oft schön ockergelb, und gleichzeitig nimmt die nun stärker gequollene, früher glatte Membran eine gekörnelte oder gestrichelte Beschaffenheit entweder in ihrer ganzen Dicke oder nur in einer schmalen Lamelle an. Erhitzt man dann bis zum Kochen, so quellen die Membranen noch mehr, und es tritt dann aus ihnen eine gestrichelte oder gekörnelte Masse mit für jeden Kork bestimmten Eigentümlichkeiten hervor (Fig. 106). Die meist ockergelbe Masse bildet gewöhnlich Ballen, die nach Ginson aus Kaliumphellonat bestehen und sich mit Chlorzinkjod violett färben. Wäscht man den Schnitt unter Deckglas mit Wasser, so zerfließen die Ballen größtenteils. Hatten sie Membranhüllen, so bleiben diese zurück. In diesem Stadium zeigt sich jede verkorkte Zellwand zusammengesetzt

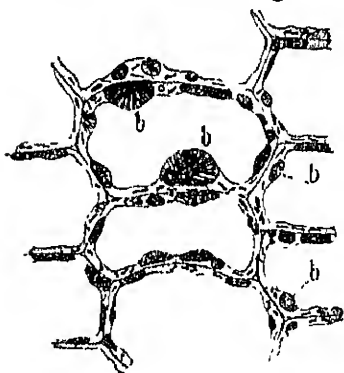


Fig. 106.  
Korkstoff-Reaktion mit Kalilauge im Kork von *Pelargonium zonale*. Man sieht die aus der Suberinlamelle austretenden Ballen  $\lambda$  (Seife) zum Teil in kristallisierter Form.

aus drei Lamellen, einer mittleren gemeinsamen und zwei, den beiden angrenzenden Zellen zugehörigen. Der Zwischenraum zwischen diesen Lamellen ist ursprünglich mit der körnigen Masse (Suberin) erfüllt. Nur verkorkte Wände und die Kutikula zeigen diese Reaktion. Die Kalilauge muß konzentriert sein. Übungsobjekte: Flaschenkork, Periderm von *Pelargonium zonale*, *Gymnocladus canadensis* usw. Diese von v. HONKEI (II, 524) eingeführte Reaktion beruht offenbar auf einer Verseifung der in der Wand vorhandenen Fettsäuren. Sie leistet ausgezeichnete Dienste und hat wesentlich beigetragen, die Korkchemie in Fluß zu bringen.

2. Cerinsäurereaktion. Wird ein Schnitt irgendeines verkorkten Gewebes mit SCHULZESCHEM Gemisch (vgl. p. 20) unterm Deckglas erwärmt, so tritt bald stürmische Gasentwicklung ein, und vom Schnitte bleiben hauptsächlich nur die verkorkten Membranen übrig. Bei weiterem Erwärmen quellen die verkorkten Zellaute plötzlich an und schmelzen zu einem Ballen zusammen, dessen Substanz in heißem Alkohol, Äther, Benzol, Chloroform und verdünnter Kalilauge löslich ist und aus Cerinsäure besteht (v. HONKEI II, 521).

3. Chromsäurelösung in reiner konzentrierter Form löst reine und verholzte Zellulosewände relativ rasch, hingegen nicht oder ungewein langsam die verkorkte Wand. Die letztere scheint in der Chromsäure, da sie sehr durchsichtig wird, zu verschwinden und sich zu lösen, aber wenn man die Chromsäure wegwäscht, so tritt sie nach 5- bis 10-tägiger Einwirkung unter dem Deckglas wieder scharf und dunkel hervor.

4. Optisches Verhalten. Verkorkte Membranen und die Kutikula sind stark doppelbrechend und die optischen Achsen sind hier

umgekehrt orientiert wie bei reinen Zellulosehäuten. AMBRONN (I) hat gezeigt, daß die Doppelbrechung verkorkter Membranen beim Erwärmen auf 100° C vollständig verschwindet, bei Erkalten aber wieder zurückkehrt, während das optische Verhalten der angrenzenden Zellulosewände unverändert bleibt. Daraus darf man schließen, daß in der verkorkten Membran eine Substanz in kristallinischer Form mit gleichförmiger Orientierung der kleinsten Teilchen vorhanden ist, daß sie bei Siedehitze schmilzt, dabei optisch neutral wird und beim Erkalten wieder in derselben Form wie früher auskristallisiert. Man wird wohl nicht fehlgehen, wenn man dieses Verhalten auf eine fett- oder wachsartige Substanz bezieht. Übungsobjekte: Birkenkork und Epidermis von *Clivia nobilis*.

5. Farbstoffe. Die verkorkten Wände haben das Vermögen, gewisse Farbstoffe, namentlich solche, die von Fetten leicht aufgenommen werden, zu speichern. Es spricht dies gleichfalls für die fettartige Natur der Korksubstanz. Vortrefflich haben sich für diesen Zweck bewährt: Sudan III, Chlorophyll, Alkannin, Cyanin, Dimethylamidoazobenzol (PLAUT II, 150) u. a.

a) Sudan III. Die Lösungen dieses Farbstoffes (vgl. p. 119) eignen sich in hohem Grade zur Ausfärbung verkorkter Wände und der Kutikula. Beide speichern den Farbstoff und färben sich dabei intensiv rot. Oft kann man die Suberinlamelle an der Färbung erkennen.

β) Chlorophyll. Verkorkte Wände und die Kutikula färben sich in alkoholischer, frisch bereiteter Chlorophylllösung grün, doch hat die Färbung keine lange Dauer (CORRENS I).

γ) Alkannin. Man läßt die Schnittte einige Stunden in einer Lösung dieses Farbstoffes in 50% Alkohol liegen. Verkorkte Wände und Kutikula färben sich dabei intensiv rot.

Störend ist, daß verholzte Membranen durch Alkannin - dasselbe gilt von Osmiumsäure - und durch Cyanin gleichfalls gefärbt werden, durch Alkannin und Osmiumsäure allerdings viel langsamer als verkorkte Zellhäute. Dieser Übelstand läßt sich aber nach dem Vorschlag von ZIMMERMANN (II) leicht beseitigen, wenn man die Gewebe vorher mit Eau de Javelle (vgl. p. 20) verschieden lange - bis 60 Stunden - behandelt. Es werden dann die Stoffe der verholzten Membranen, die die Farbstoffspeicherung bedingen, ganz oder größtenteils zerstört, während dies bei den verkorkten Zellhäuten nicht der Fall ist.

#### Histochemisches.

Nach v. HONNEL (II, 568) besteht jede, zwei benachbarten Zellen angehörende Korkzellwand aus fünf Lamellen: einer mittleren (Mittellamelle), zwei Suberin- und zwei Zelluloselamellen. Die mittlere setzt sich aus verholzter Zellulose, die beiden sich anschließenden Suberinlamellen aus Zellulose und Suberin und die äußersten an das Lumen angrenzenden Zelluloselamellen aus reiner oder meist verholzter Zellulose zusammen.

Nach WISSELINGH (II, III) und FRISTLEY (I) entbehrt die Suberinlamelle der Zellulosegrundlage. Wenn das Suberin herausgelöst wird, bleibt in der Suberinlamelle keine Spur von Zellulose zurück. Die Violettfärbung, die nach der Behandlung mit Kali sich in der Suberin-

lamelle und besonders an den Ballenhüllen bei Zusatz von Chlorzinkjod einstellt, wird auf die Phellonsäure und ihr Kaliumsalz zurückgeführt. Diese beiden Substanzen färben sich auch mit Schwefel- und Salzsäure und Jod violett.

Viele verkorkte Membranen geben auch, insbesondere in der Mittellamelle, die Holzstoffreaktionen und damit im Zusammenhang steht vielleicht auch, daß KÜGLER im Kork auch kleine Mengen von Coniferin und Vanillin nachgewiesen hat.

#### Vorkommen der Verkorkung.

Verkorkte Wände findet man stets bei den Periderm- oder Korkzellen, ferner bei den Zellen der äußeren und inneren Endodermis, in einem eigentümlichen Gewebe unter der Fruchtschalenepidermis zahlreicher Capsicum-Varietäten, das man als verkorktes Kollenchym bezeichnen kann (MOLISCH IV), und bei zahlreichen Sekretbehältern (ZACHARIAS I, TSCHIRCH I, 180). Besonders häufig verkorkt sind die Wände von Behältern, die ätherische Öle enthalten, während Schleim- und Raphidenbehälter mit verkorkten Membranen nur selten gefunden werden: Alob, Mesembryanthemum, Hohenbergia.

#### Kutikula.

Sämtliche Epidermiszellen, mit Ausnahme der Wurzel, sind mit einem äußerst zarten Häutchen, der Kutikula, bedeckt. Sie umkleidet auch die Haare und die Schließzellen bis in die Atemhöhle hinein. Dieses Häutchen hat in mancher Beziehung eine ähnliche Beschaffenheit wie die Suberinlamelle der verkorkten Wand und teilt auch ihre große Resistenz gegenüber Chromsäure, Schwefelsäure und Kalilauge, nur noch in viel höherem Grade. Die Meinung v. HORNELS (III), daß die Suberinlamelle und die Kutikula ihre Eigenschaften durch ein und denselben Stoff, durch das Suberin, erhalten, kann heute nicht mehr aufrecht erhalten werden, obwohl eine gewisse nähere Verwandtschaft zugegeben werden muß. Man nennt den Stoff oder das die Kutikula auszeichnende Stoffgemisch Cutin (FREMY). Nach WISSELINGH (IV), der die Kutikula mikrochemisch untersucht hat, besteht das sogenannte Cutin aus einem Gemenge schmelzbarer und unschmelzbarer Substanzen. Die ersteren lassen sich in manchen Fällen durch Erhitzen der Epidermiswände in Wasser oder Glycerin, in anderen Fällen durch Erhitzen der Objekte in den erwähnten Flüssigkeiten nach vorhergehender Mazeration mit wässriger Kalilauge nachweisen. Es sind Fettstoffe, die man früher mit DE BARY (vgl. p. 123) Wachs genannt hat.

WISSELINGH konnte ferner mittels Kaliumhydroxyd aus den Epidermiswänden seifenähnliche Stoffe isolieren, aus denen durch Erhitzen mit verdünnten Mineralsäuren Substanzen abgeschieden werden konnten, die sich in kochendem Alkohol lösen, bei 70–80° schmelzen und als Säuren anzusprechen sind. Die in der Suberinlamelle vorhandenen Fettstoffe sind von denen der Kutikula verschieden, auch fehlt der letzteren die Phellonsäure. Zellulose ist nicht vorhanden. Im übrigen teilt die Kutikula viele Eigenschaften mit der verkorkten Wand: die schon erwähnte außerordentliche Resistenz gegenüber Chromsäure, Eau de Javelle, Schwefelsäure, die Kali-, Cerinsäurereaktion und die Färbbarkeit mit gewissen bereits erwähnten Farbstoffen.

Mit dem SCHIFFSchen Reagens gibt die Kutikula eine Rotfärbung, weshalb GENEAU DE LAMARLIÈRE (1) hier einen aldehydartigen Stoff vermutet. Mit Hilfe dieses Reagens kann man die Kutikula, wie ich bestätigen kann, außerordentlich scharf anfärben, die Kutikula reagiert in dieser Hinsicht genau so wie die verholzten Membranen.

Die unmittelbar unter der Kutikula liegenden Wandschichten zeigen oft einen ähnlichen chemischen Charakter wie die Kutikula selbst, nur in schwächerem Grade; sie werden Kutikularschichten genannt. Mit Chlorzinkjod treten diese drei Schichten oft scharf hervor: zu äußerst die Kutikula, dann die Kutikularschichten, beide, meist in verschiedenem Grade, braun gefärbt, und dann die Zelluloseschichten, violett gefärbt (Fig. 107).

Die Zellhäute der Pollenkörner und Sporen zeigen oft ähnliche Eigenschaften wie die Kutikula und die verkorkten Wände. Sie werden deshalb als kutinisiert bezeichnet. Die sie auszeichnenden Stoffe bedürfen noch genauerer Untersuchung.

**Bedeutung der Verkorkung und der Kutikula.** Der chemischen Beschaffenheit verkorkter und kutinierter Häute kommt im Leben der Pflanze zweifellos eine besondere Wichtigkeit zu. Beide, Kork, und Kutikula, haben unter anderem die Hauptaufgabe, die Transpiration der Pflanze zu hemmen, und hierbei spielen die in der Membran eingelagerten fettartigen Stoffe eine große Rolle. Die höheren Landpflanzen stecken gewissermaßen in einem Fettmantel. Auch die verkorkten Wände der Endodermis und der Sekretbehälter dienen analogen Aufgaben; auch hier handelt es sich um eine Regulierung bzw. Hemmung des Stoffaustausches. Die Wurzelepidermis trägt, wie KROEMER (I, 20) und RUMER (I, 13) gezeigt haben, keine Kutikula, die Zellen sind höchstens schwach kutinisiert. Dies erscheint begreiflich, da ja die Wurzelepidermis Wasser und die darin gelösten Nährstoffe aufzunehmen hat.

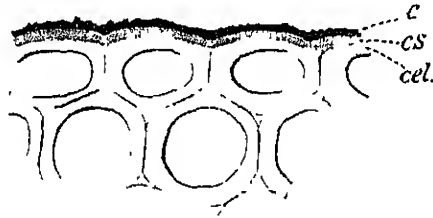


Fig. 107.

Stück eines Querschnittes durch das Blatt von *Aucuba japonica*. c Kutikula, cs Kutikularschichten und cel. Zelluloseschicht  
Veigr. 250

### 5. Gummi und Schleime

sind Kohlehydrate, die im Wasser mehr oder minder quellen, eine Gallerte bilden oder sich lösen, in Alkohol, Äther, Schwefelkohlenstoff unlöslich sind und in vielen Fällen größtenteils der Membran ihren Ursprung verdanken. Man unterscheidet oft noch heute zwischen Gummi und Schleimen, indem man als Gummi die klebrigen, fadenziehenden Kohlehydrate, als Schleime hingegen die nicht fadenziehenden, in Wasser quellenden membranartigen Stoffe bezeichnet. Ein strenger Unterschied existiert aber nicht, und es wird daher der Begriff Gummi und Schleim auch gleichsinnig gebraucht. Jedenfalls haben wir es mit hoch molekularen Kohlehydraten zu tun, von denen sich viele bei der Hydrolyse als Arabane, Galaktane und Galaktoarabane usw. entpuppen

und bei der hydrolytischen Spaltung bestimmte Gummisäuren liefern. Bezüglich der Details der Eigenschaften vergleiche man WIESNER (III), ZEISEL (II) und GRAFE (I).

### Nachweis.

1. Quellung und Lösung. Für den mikrochemischen Nachweis ist unter anderem die Eigentümlichkeit zu beachten, im Wasser hochgradig zu quellen oder sich unter Aufquellung zu lösen. Arabisches Gummi löst sich leicht, Kirschgummi unvollständig, Traganth wenig, quillt aber ungemein stark auf. Soll eine Membran oder ein Zellinhaltskörper auf seine Gummi- oder Schleimnatur geprüft werden, so betrachte man den Schnitt zuerst in absolutem Alkohol und lasse dann erst Wasser zufließen. Gummi und Schleime quellen dann allmählich sehr stark, oft bis zum Verschwinden auf, werden aber durch Alkohol wieder gefällt. Die rasche Quellbarkeit der Schleime im Wasser ist der Beobachtung oft hinderlich. Um das Aufquellen zu verhindern und den Schleim doch in einer wässrigen Lösung beobachten zu können, hat man Bleiazetat empfohlen. Schleime, die vorher in Alkohol gehärtet werden, quellen in Bleiessig meist nicht.

2. Löslichkeit. Unlöslich in Alkohol, Ather und Schwefelkohlenstoff. In Kupferoxydanmoniak oder Chloralhydrat sind sie teils löslich, teils unlöslich.

3. Orcin-Salzsäure-Reaktion. (REHL I, WIESNER IV, 59) Schnitte werden in 4proz. Orcinlösung gelegt, mit einem Deckgläschen bedeckt und dafür gesorgt, daß die Flüssigkeit den Schnitt eben bedeckt und nicht über den Schnitttrand herausragt, dann wird konzentrierte Salzsäure hinzugefügt, bis der Raum unter dem Deckglas vollständig erfüllt ist. Verholzte Wände nehmen bei dieser Prozedur eine violette Farbe an (Holzstoffreaktion). Erwärmt man jetzt gelinde langsam über dem Drahtnetz bis zum Sieden, dann färben sich Gummi und Schleime violett oder blau. Diese wie die folgende Reaktion beruht auf der Gegenwart von Pentosanen in Gummi.

4. Farbstoffe. MANGIN (I) hat die im Pflanzenreiche so verbreiteten Schleime in Zellulose-, Pektose- und Calloseschleime unterschieden und versucht, sie hauptsächlich nach ihrer Gerinnbarkeit und Färbbarkeit mit bestimmten Farbstoffen zu charakterisieren. Zu den Zelluloseschleimen rechnet er den Salepschleim, zu den Pektoseschleimen die meisten sogenannten echten Schleime (Malvaceen Tilliaceen, Rosaceen, Abietineen, Cyadeen), die Gallertscheiden bestimmter Algen (Nostoc) usw. und zu den Calloseschleimen die aus dem Callus der Siebröhren, der Sporangiumwand der Mucorineen und der Wand der Pollenmutterzellen. Es werden von MANGIN eine große Reihe von Farbstoffen zur Unterscheidung der verschiedenen Schleime empfohlen, aber ich würde es nach meinen Erfahrungen nicht wagen, auf Grund einer Färbung eine Entscheidung über die Art des Schleims zu treffen, zumal die empfohlenen Farbstoffe auch noch andere Körper färben und in ein und derselben Zelle verschiedene Schleime gemischt vorkommen können. Hingegen können gewisse Farbstoffe mit Vorteil verwendet werden, um Schleimbehälter rasch auffindig zu machen und ihre Verteilung im Gewebe zu demonstrieren. Als ein solcher Farbstoff hat sich für viele Schleime und Gummianten Corallin bewährt.

Man verwendet eine Lösung des Farbstoffes in konzentrierter Soda-lösung. Sie muß, da sie sich zersetzt, von Zeit zu Zeit erneuert werden. BOEHRMERSCHES Hämatoxylin leistet nach NESTLER (I) ausgezeichnete Dienste bei der Ausfärbung der Schleimzellen der Malvaceenblätter, ebenso auch alkoholisches Methylenblau und LÖFFLER-Blau. Hingegen konnte WALLICZEK (I, 226) bei Kakteen die Schleimzellen mit Hämatoxylin-Alaun oder Methylenblau nicht anfärben. Anilinblau, Gentianaviolett und ganz besonders Rutheniumrot bewährte sich nach BORESCH (I) bei der Untersuchung der Gummibehälter verschiedener Bromeliaceen. Rutheniumrot ist nach MANGIN (II) ein ausgezeichnetes Reagens für die mit Zellulose verbundenen Pektinstoffe und die meisten aus diesen hervorgehenden Gummi und Schleime.

5. Kupfersulfat + Kalilauge. Viele Schleime färben sich, wenn man sie in Kupfersulfatlösung (10%) und dann in Kalilauge (10%) einlegt, himmelblau. In so behandelten Präparaten zeigt der Schleim oft auffallende Strukturen: konzentrische oder exzentrische Schichtung, Netze, Fäden und Waben. Orchideenschleimzellen geben ein gutes Versuchsmaterial ab.

#### Vorkommen.

Schleim und Gummi treten im Pflanzenreiche so häufig auf, daß im speziellen darauf nicht eingegangen werden kann. Es sei nur hervorgehoben, daß alle Organe der Pflanze Schleime oder Gummi bilden können. Sie können auftreten im Zellinhalt (Schleimzellen der Orchis-Knollen, Rhizom von *Symphytum offic.*) oder in besonderen Schleimbahnen (MOLISCH V), als sekundäre Wandverdickung (Samenepidermis der Graciferae, *Linum*, *Cydonia* usw.) und infolge nachträglichen Verschleimens der Zellwand oder ganzer Gewebe. Das letztere kommt bei der profusen Gummiosis der Amygdaleen, der Mimosaceen, der Astragaleen und anderer Pflanzen vor. Die Bildung des Kirschgummis, des arabischen Gummis und des Traganths beruht bekanntlich darauf, doch liefern nicht bloß die Membranen, sondern auch die Inhaltsstoffe der Zelle das Material hierzu. Neben dieser profusen Gummibildung gibt es dann auch noch eine andere, die zwar zu keiner Massenproduktion, wohl aber zu einer teilweisen oder gänzlichen Verstopfung oder Austattung der Holzgefäße und benachbarter Elementarorgane im Kern- und Wundholze führt. TEMME (I), PRAEL (I), TSCHIRCH und WILL (I) haben die fast allgemeine Verbreitung dieser Gummibildung bei den Laubbäumen und MOLISCH (V, 289) bei vielen krautigen Pflanzen kennen gelehrt. Dieses Gummi wurde von TEMME als Wundgummi bezeichnet, weil es aller Wahrscheinlichkeit nach die Rolle eines Wundverschlusses spielt und infolge einer Verwundung auftritt.

Das Auffallende bei diesem Wundgummi ist, daß es die charakteristische Eigenschaft der Gummiarten, im Wasser aufzuquellen oder sich gar zu lösen, nicht zeigt. Es ist ferner unlöslich in Alkohol, Äther, Schwefelkohlenstoff und Kalilauge. Durch Kochen mit Salpetersäure wird es gelöst, wobei es in Oxalsäure und Schleimsäure übergehen soll. Es speichert Fuchsin und gibt mit Phloroglucin und Salzsäure eine intensiv rote Färbung. MOLISCH (V, 290) stellte fest, daß diese Substanz nicht nur die erwähnte Holzstoffreaktion gibt, sondern noch andere, denn sie wird mit Anilinsulfat und mit Metadiamidobenzol intensiv gelb, mit Orcin und Salzsäure blaviolett und mit Thymol-Salzsäure-Kaliumchlorat grünblau. Höchstwahrscheinlich deshalb, weil diejenigen Stoffe, die im Holze die Holzstoffreaktionen geben, auch im Wundgummi vorkommen. Der Umstand, daß das Wundgummi im Wasser weder quillt noch sich löst, und die Erwägung, daß die von TEMME behauptete



Überführung in Schleim- und Oxalsäure mit reiner Substanz nicht durchführbar ist, läßt es derzeit zweifelhaft erscheinen, ob man es wirklich im „Wundgummi“ — ich meine den nicht quellbaren Inhaltsstoff — mit Gummi zu tun hat, und erfordert neue Untersuchungen.

Reich an Membranschleimen sind auch viele Algen. In Fucoiden wurden Fucoidin, Algin und Fucin nachgewiesen. Das Fucin ist ein Bestandteil der Interzellularsubstanz und färbt sich mit Jodjodkaliumlösung und verdünnter Schwefelsäure blau (WISSELINGH I, KYLIN I).

## 6. Pektinstoffe.

In der Zellwand finden sich häufig Stoffe von gallertiger oder schleimiger Konsistenz vor oder solche, die leicht in derartige Stoffe übergehen. Auch im Zellinhalt besonders reifer Früchte können solche Substanzen gelöst vorkommen, die beim Erkalten oder durch Alkohol als Gallerte gefällt werden. Man nennt sie Pektinstoffe.

Das Apfel-, Birnen- und Quittengelee besteht größtenteils aus diesen Stoffen. Ihre Chemie liegt noch sehr im Argen. Sie scheinen den Gummiarten nahestehen, denn beide besitzen Pentosannatur. Die meisten Pektinstoffe liefern bei der Hydrolyse Pentosen, fast regelmäßig Arabinose, außerdem Hexosen, z. B. Galaktose und Sauren. Sie haben eine den Kohlehydraten ähnliche Zusammensetzung, doch scheint der Sauerstoffgehalt etwas höher zu sein. Verbindungen der Pektine mit Kalk heißen Pektosen. Auch diese kommen in der Zellhaut vor.

### Nachweis.

Ein mikrochemisches eindeutiges Reagens auf Pektine ist derzeit leider nicht bekannt. Man ist vornehmlich auf Löslichkeit und Färbbarkeit angewiesen. Um den mikrochemischen Nachweis der Pektine hat sich besonders MANGIN (11) Verdienste erworben; seinen Untersuchungen ist folgendes zu entnehmen. Die junge Zellwand und die durch Inkrustation nicht veränderte besteht nicht aus reiner Zellulose, sondern erscheint stets von Pektinen begleitet, die sich von ihr wesentlich durch ihr Verhalten gegenüber gewissen Farbstoffen, durch ihre optischen Eigenschaften und die große Veränderlichkeit unter dem Einflusse von Säuren und Basen unterscheiden.

Die Zellulose wird gefärbt durch die farbenden Säuren der Azofarbstoffe, umfassend einerseits die Farbstoffe der Benzidinreihe, die sich mit der Zellulose in einem alkalischen Bade verbinden (Kongo, Benzopurpurin, Deltapurpurin, Benzoazurin usw.), andererseits die tetrazoischen Farbstoffe wie Orceilline BB, Naphtholschwarz usw., die die Zellulose im sauren Bad färben.

Die Pektine verhalten sich diesen Farbstoffen gegenüber indifferent, färben sich aber mit den meisten basischen Farbstoffen der verschiedensten Gruppen: Safranin, Methylenblau, Naphtylenblau R., Säuregrün J.E.E.E., Neutralrot usw. Safranin färbt die plasmatischen Stoffe, die verholzten und verkorkten Hüllen kirschrot, die Pektinstoffe aber orange-gelb. Methylenblau und blau de mit färbt die Pektine blauviolett, die anderen Bestandteile der Zelle rein blau. Durch verdünnte Säuren, wie Essigsäure oder Milchsäure, werden die so ge-



färbten Pektinkörper sofort ganz entfärbt, im Gegensatz zu Plasma und verholzten Membranen. Besonders empfohlen wurden zur Doppelfärbung Naphtylenblau R und Säuregrün J. EEE (POIRIER) in einer Lösung von 100 g Wasser und je 1 g der genannten Farbstoffe. Plasma, verholzte und verkorkte Wände werden damit grün, Pektinstoffe aber violett. MANGIN bringt die Objekte entweder direkt in die Farbstofflösungen oder erst nach längerer Behandlung mit Eau de Javelle und nachherigem Auswaschen in destilliertem Wasser und 15proz. Essigsäure.

Ungemein wertvoll für den Pektinnachweis ist nach MANGIN (II) das ammoniakalische Rutheniumsesquichlorid. Es ist in Wasser, konzentrierter Chlorkalcium- und Alaunlösung löslich. Die wässrige Lösung ( $\frac{1}{5000}$  bis  $\frac{1}{10000}$ ) muß im Finstern aufbewahrt werden. Der Farbstoff reagiert nicht auf Zellulose und Callose, aber stark auf Pektinstoffe und auf die daraus abstammenden Gummiarten und Schleime. Demgegenüber betont mit Recht TOBLER (I), daß die Verwertung des Rutheniumrots als Reagens für Pektinstoffe keine einwandfreie ist, da auch andere Stoffe, wie Glykogen und Isolichenin, den Farbstoff stark speichern.

Die Pektinverbindungen sind vollkommen löslich in Alkalien, sowohl nach Behandlung mit Säuren als auch nach kalter Mazeration mit Alkalien. Zellulose bleibt unter diesen Verhältnissen ganz oder fast ungelöst. Die Pektinsubstanzen sind isotrop, die Zellulose anisotrop, Pektinstoffe lösen sich in Cuoxam nur nach vorheriger Einwirkung kalter Säuren, Zellulose direkt.

Von den in der Membran auftretenden Pektinverbindungen verdienen besondere Beachtung die Pektose und die Pektinsäure.

Die Pektose tritt nach MANGIN nur Zelluloseartig vereint auf in den jungen Geweben, den Zellen der Vegetationsspitze und der Folgermeristeme, in den weichen Geweben, in Phloem, Kollenchym, Epidermis. Sie fehlt auch nicht in den meisten verholzten, verkorkten und kutimsienten Geweben. Durch Cuoxam wird sie in Pektinsäure übergeführt.

Die Pektinsäure soll sich hauptsächlich als unlösliches Pektat gewöhnlich als Calciumpektat in weichen, alten Geweben finden. Hier bildet sie die Mittellamelle oder Interzellularsubstanz und auch die dünne Haut, die die Interzellularraume auskleidet. DEYERX (I) bestreitet die Zusammensetzung der Mittellamelle aus Calciumpektat, ebenso O. RIETTER (I, 394). Es ist nicht unwahrscheinlich, daß die Mittellamelle nicht immer dieselbe Zusammensetzung hat, und so waren beide Ansichten möglich.

Bei vielen Früchten macht die Interzellularsubstanz, wie TSCHECHEN (II) gezeigt hat, eine Metamorphose, die Pektinmetamorphose durch, d. h. sie verdickt sich und wird in heißer Zuckerlösung löslich. Werden Schnitte durch die reifen oder nahezu reifen Früchte mit 35 bis 65proz. Rohrzuckerlösung gekocht, so löst sich nur das Pektin, der noch unveränderte Teil der Interzellularsubstanz und die sekundären Membranen bleiben ungelöst. Beim Erkalten geseht die Lösung zu einer Gallerte, die als hyaline Masse den ganzen Raum zwischen den Zellen ausfüllt.

Die Pektinsubstanzen spielen bei der Verkittung der Zellen sicherlich eine bedeutsame Rolle, die Rolle eines Zements oder Mörtels, und

bei der natürlichen oder künstlichen Isolierung der Zellen wird es sich wohl oft um die Lösung dieser Kittsubstanzen handeln.

Die Membran der Diatomeen. Nach MANGIN (IV) enthalten die Diatomeenschalen als organischen Bestandteil nur Pektinstoffe, sie sind also frei von Zellulose und Callose. Kieselsäure und Pektin sind hier aufs innigste miteinander verbunden; sie beide bilden die gröberen und feineren Skulpturierungen der Schalen, daher denn auch das organische, von Kieselsäure befreite Membranskelett das Relief der Wand gleichfalls auf das genaueste erkennen läßt. Überdies kommt nach MANGIN noch eine freie Pektinmasse vor, die die Schale nicht bloß durchdringt, sondern auf der Oberfläche einen Überzug bildet.

Die Schalen der Diatomeen verhalten sich den Farbstoffen gegenüber, die die Zellulose und Callose färben, indifferent. Anders aber gegenüber den Pektin anzeigenden Farbstoffen. Allerdings färben sich die Diatomeen direkt damit nicht, wohl aber nach folgender Behandlung: Sie werden zunächst in 50proz. Salzsäure, der chloresäures Kali zugesetzt wurde, 24 Stunden mazeriert, in absolutem Alkohol und alkoholischer Kalilauge (potasse) von Sirupdicke eingelegt, mit gewöhnlichem, absolutem Alkohol gewaschen und dann in 3proz. Borsäurelösung überführt. So behandelte Diatomeenschalen färben sich mit Rutheniumrot intensiv. Daraus schließt MANGIN auf Pektin. Die Diagnose ist also im wesentlichen auf eine Farbstoffaufnahme aufgebaut, und da wird man sich eines gewissen Zweifels nicht erwehren können, bevor nicht noch weiteres Beweismaterial herbeigeschafft wird.

## 7. Callose.

Die Siebplatten der Siebröhren werden häufig von einer eigenartigen, ziemlich stark lichtbrechenden Masse überlagert, die von HANSTEIN als Callus bezeichnet wurde. Sie stimmt chemisch weder mit Zellulose noch mit Pektin überein und erhielt durch MANGIN den Namen Callose. Callose ist amorph, farblos, unlöslich in kaltem Wasser, Alkohol und Kupferoxydammoniak, auch nach vorhergehender Behandlung. Säuren, konzentrierte Schwefelsäure, Chlorkalcium-, Zinnchloridlösung, Kali-, Natronlauge (1%) lösen leicht. Alkalikarbonate und Ammoniak machen Callose in der Kalte aufquellen und gelatinös, ohne zu lösen.

MANGIN unterscheidet zwei physikalische Modifikationen der Callose. Die eine zeigt direkt die für die Callose charakteristischen Färbungen und Reaktionen, die andere erst nach vorheriger Behandlung mit kaustischen Alkalien oder Oxydationsmitteln oder mit beiden.

Er geht beim Nachweis geringer Callosemengen so vor: Das Objekt, z. B. ein Blatt, wird in einige Zentimeter breite Stücke zerschnitten, zur Verdrängung der Luft in Alkohol wenige Minuten gekocht, in gewöhnliche Salpetersäure für einige Zeit übertragen, mit Wasser gewaschen, wieder zur Verdrängung der Luft mit Alkohol behandelt, zur Lösung der Xanthoproteinsäure und ihrer Derivate in Ammoniak eingelegt und dieses zwei- bis dreimal erneuert, bis das Gewebe farblos und durchsichtig geworden ist. Nun wird das Gewebe mit 3proz. Essigsäure neutralisiert und schließlich in ein Gemisch von einem löslichen Blau (bleu coton, Baumwollblau, bleu papier, bleu

soluble à l'eau ou bleu marin) und Orseille BB oder brun vésuvien acide gebracht. Die aus Callose bestehenden Membranen nehmen dann eine schön himmelblaue Färbung an, die von der rosafarbenen oder braunen Umgebung scharf absticht. Sehr gut bewährte sich Anilinblau, Nicholsonblau G B, Brillantblau, Alkalischblau, besonders gemischt mit Bismarckbraun (Vesuvien). Es empfiehlt sich dieses Farbstoffgemisch in saurem Bade, etwa in 3proz. Essigsäure oder Ameisensäure, zu verwenden. Die Kutikula und stickstoffhaltige Substanzen färben sich damit braun, Callose leuchtend grünblau. Da Salpetersäure und Ammoniak etwas Callose lösen können, ist es gut, zur Kontrolle auch ohne vorhergehende Behandlung direkt zu färben.

#### Vorkommen.

Besonders massig ausgebildet erscheint die Callose im Callus der Siebröhren (Fig. 108) und in den Pollenschläuchen (Fig. 109). In den Siebröhren tritt sie

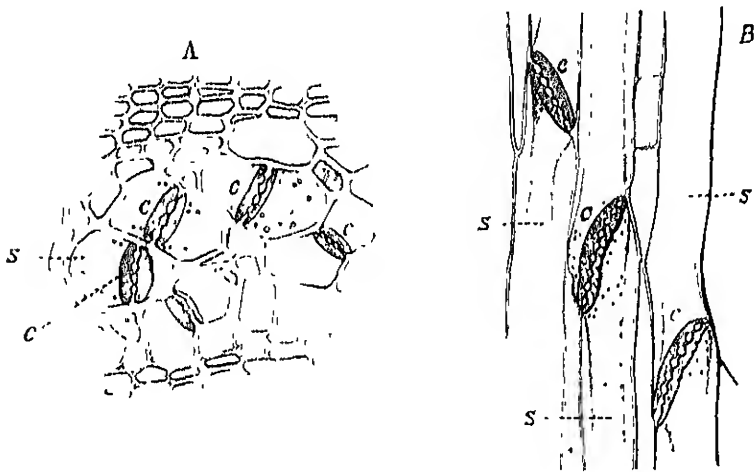


Fig. 108.

*Vitis vinifera* A Querschnitt durch den Bast c Siebröhren c Callus der Siebplatte. B Längsschnitt durch den Bast. 3 Siebröhren Bezeichnung wie bei A. Vergr. 280

auf, wenn die Saftleitung im Innern der Siebröhren gehemmt werden soll, in den Pollenschläuchen, um das Rückströmen des Plasmas zu den alten Teilen des Pollenschlauchs zu verhindern. Die Callose kommt nach MANGIN auch vor. in den Cystolithen neben Zellulose und Pektinstoffen, in verschiedenen anderen, mit kohlensaurem Kalk inkrustierten Membranen, so z. B. in verkalkten Haaren, wo sie das Lumen teilweise oder ganz ausfüllt, in der Fruchtschale von *Myosotis*, *Cynoglossum*, *Pulmonaria*, *Lithospermum*, *Symphytum*, in der Membran der Pollenmutterzellen und in der Nähe von Wundkork. Ferner nach MIRANDE (I) in der Membran von *Caulerpa*.

Es sei ausdrücklich betont, daß die Callose noch niemals makrochemisch gewonnen wurde und vorläufig noch eine ganz hypothetische Substanz darstellt. Daher ist bei der Diagnose große Vorsicht geboten, um so mehr, als ja MANGIN

auf Grund seiner Callose-Farbstoffreaktionen auch Callose weit verbreitet in Pflanzmembranen angenommen hat, während wir doch heute wissen, daß es sich hier zumeist gar nicht um Callose, sondern um Chitin handelt. — Die Angabe von MOORE (1), wonach der Callus von Cucurbitasieböhren aus Eiweißstoffen bestehe, bedarf der Nachprüfung, denn für den *Vitis vinifera*-Callus kann ich sie nicht bestätigen. Ich konnte keine Eiweißreaktionen erzielen.

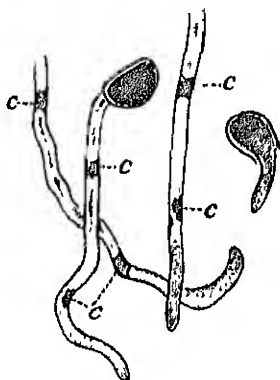


Fig. 109.  
*Galanthus nivalis*. Pollenschläuche mit Callosepfropfen *c*, kultiviert in Zuckurlösung (10proz.).  
Vergr. 180.

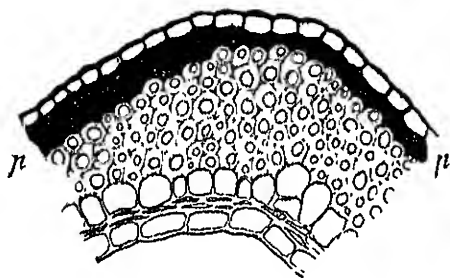


Fig. 110.  
Phytomelan im Perikarp (Querschnitt) von *Bidens pilosa*. Die schwarze, kohlige Masse *p* unter der Oberhaut besteht aus Phytomelan. Vergr. 180

## 8. Phytomelane.

Durch die umfassenden Untersuchungen von HANAUSEK (1-IV) wurde die Aufmerksamkeit auf eine eigenartige, ungemein kohlenstoffreiche Substanz gelenkt, die sich im Perikarp oder im Hüll- und Spreublatt vieler Kompositen vorfindet. Zwar wurde diese kohlige Substanz schon von anderen Forschern (C. HARTWICH, PRISLER, TSCHEUCH, GERDTS) erwähnt, aber erst HANAUSEK blieb es vorbehalten, ihre weite Verbreitung im Bereiche der Kompositen und ihre Entwicklung darzutun und die Chemiker dafür zu interessieren. Die tiefbraune oder schwarze Masse entsteht aus der Mittellamelle, sie tritt immer an der Außenseite des mechanischen Gewebeteils der Fruchtwand, der Bastzellbündel und Steinzellen auf, wo sie den Raum zwischen diesen und dem Parenchym oder der Oberhaut ausfüllt (Fig. 110). In der Längsansicht gewahrt sie das Bild eines von anastomosierenden Strängen gebildeten Netzes (Fig. 111).

Merkwürdig ist die ganz außerordentliche Widerstandsfähigkeit der schwarzen Masse gegen losende und zersetzende Mittel. Abgesehen von heißer Kalilauge und der Chrom-Schwefelsäure (vgl. p. 20), die nur sehr wenig angreifen, und von Jodwasserstoffsäure, rußt kein anderes Reagens eine Veränderung hervor. Nur bei der Verbrennung wird sie zerstört. Man kann sie leicht isolieren, wenn man die Kompositenfrüchte in Chrom-Schwefelsäure legt. Hier wird alles Organische zerstört, und nur die kohlige Masse bleibt in einer für jede Gattung charakteristischen Form (Netze, Platten usw.) zurück (Fig. 111).

DAFERT und MIKLAUZ (1) haben im Anschluß an HANAUSEKS mikrochemische Untersuchungen die schwarze Masse makrochemisch

geprüft und fanden, daß diese den Kompositenfrüchten eigentümlichen dunklen Substanzen, die sie Phytomelane nennen, komplizierte, stickstofffreie organische Verbindungen darstellen, Wasserstoff und Sauerstoff sehr annähernd in gleichem Atomverhältnis wie Kohlehydrate enthalten, aber viel kohlenstoffreicher als diese sind. Der Kohlenstoffgehalt schwankt bei verschiedenen Gattungen zwischen etwa 69—76 %. Jodwasserstoffsäure ist das einzige Reagens, das Phytomelane angreift. Es führt im Einschlußrohr die Phytomelane, ohne ihre Struktur zu ändern, in grünlichgelbe bis dunkelblaue Produkte über. Die Phytomelane dürften ihre Entstehung einer regressiven Stoffmetamorphose durch Wasseraustritt nach dem Schema  $x(C_6H_{10}O_2) - yH_2O$  verdanken.

HANAUSEK hat die Phytomelane bei 98 Kompositengattungen (Helianthus, Tagetes, Xanthium, Carthamus, Bidens usw.) festgestellt, fast immer im Perikarp. Auch Füll- (Sphaeranthus) und Spreublätter (Ammobium), ja sogar Wurzeln (Perezia, Rudbeckia pallida) können sie enthalten. Es ist möglich, daß die schwarze Farbe gewisser Flechten vielleicht mit Phytomelanen oder mit ihren Vorstufen in Beziehung stehen, z. B. die schwarzen Körperchen im Hymenium der Flechte Biatora fusca und die wie humifiziert aussehenden Membranen vieler Flechten und Pilze, sowie die Gehäuse vieler Pyrenocarpen und Discocarpen (SENET I). Hier sei auch an das schwarze Pigment erinnert, das dem Ebenholz seine schwarze Farbe verleiht. Samtliche Elemente des Kernholzes von Diospyros Ebenus sind mit einem dunkelgefärbten Inhalt erfüllt, der ursprünglich Gummi ist und dann in eine gegen Reagentien ungemein widerstandsfähige Masse umgewandelt wird („Wundgummi“). MOLISCH (VI) hat seinerzeit zu zeigen versucht, daß das Gummi später einen Humifikationsprozeß durchmache und infolgedessen die schwarze Farbe annehme. BÉLOUBÉK (I), dem MOLISCHS Arbeit entgangen war, verstieg sich sogar zu der Behauptung, daß hier Kohle vorliege. PRAEL (I, 71), TSCHIRCH und WILL (I) meinen, daß es sich hier weder um einen Humifikations- noch um einen Karbonisationsprozeß handle, eine Aufklärung über die Natur des schwarzen Farbstoffs geben sie aber, wie auch HANAUSEK (III) richtig hervorhebt, nicht.

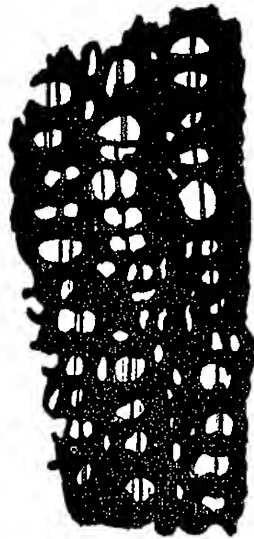


Fig. 111.  
Phytomelanschichte aus dem Perikarp von *Xanthium spinosum*, isoliert durch Chromsäure. Tangentialansicht. Vergr. 180.

Jetzt, da wir in den Phytomelanen einen kohlenstoffreichen Körper kennen gelernt haben, wäre eine Untersuchung des schwarzen Ebenholzfarbstoffes von neuem erwünscht, insbesondere nach der Richtung, ob in dem schwarzen Farbstoff nicht doch ein sehr kohlenstoffreicher Körper vorliegt. Ein Phytomelan ist der Inhaltkörper des Ebenholzes nach DAFERT und MIKLAUZ (I, 147) nicht, da er in Chromschwefelsäure vollständig gelöst wird. Es ist aber die Frage, ob man bei diesen

Untersuchungen zwischen dem „Wundgummi“, d. h. der Grundmasse des Inhaltsstoffes in den Gefäßen und anderen Elementen des Ebenholzes und dem darin eingebetteten schwarzen Farbstoff unterschieden hat. Man wird den Farbstoff für sich untersuchen müssen, wenn man über seine Natur wird ins Klare kommen wollen.

## Literatur

zu p. 335 bis 360.

- Ambrohn, H., I. Über das optische Verhalten der Kutikula und der verkorkten Membranen. (Ber. d. Deutsch. bot. Ges. 1888, Bd. VI, p. 226.)
- Bary, de, I. Morphologie und Physiologie der Pilze, Flechten und Myxomyceten. Leipzig 1866, p. 7.
- , II. Vergl. Morphologie und Biologie der Pilze usw. Leipzig 1884, p. 14.
- Bělohoubek, A., I. Über Ebenholz und dessen Farbstoff. (Sitzungsber. d. Böhm. Ges. d. Wiss. zu Prag, 6. Juli 1883.)
- Borcsch, K., I. Über Gummifluß bei Bromeliaceen usw. (Sitzungsber. d. Kais. Akad. d. Wiss. in Wien 1908, Bd. CXVII, p. 1001.)
- Brunswik, H., I. Über die Mikrochemie der Chitosanverbindungen. (Biochem. Ztschr. 1921, Bd. OXIII, p. 111.)
- Burgerstein, A., I. Untersuchungen über das Vorkommen und die Entstehung des Holzstoffs in den Geweben der Pflanzen. (Ebenda 1874, Bd. LXX, Abt. I, Juliheft.)
- Casparis, P., I. Beiträge zur Kenntnis verholzter Zellmembranen (Pharm. Monatshefte. Beibl. z. Pharm. Post [Wien] 1920, I. Jg, p. 121.)
- Chevreul, I. Sur le moyen d'analyser plusieurs matières végétales et le hège en particulier. (Ann. d. Chim. 1815, T. XCVI, p. 141.)
- Correns, C. E., I. Zur Anatomie und Entwicklungsgeschichte der extranuptalen Nektarien von Dioscorea. (Sitzungsber. d. Kais. Akad. d. Wiss. in Wien 1888, Bd. XCVII, Abt. I, p. 658.)
- , II. Über die Membran von Caulorpa. (Ber. d. Deutsch. bot. Ges. 1891, Bd. XII, p. 355.)
- Crié, I. Comptes rendus 1879, T. LXXXVIII, p. 759, 985
- Czapek, F., I. Biochemie der Pflanzen. Jena 1913, Bd. I.
- , II. Über die sogenannten Ligninreaktionen des Holzes. (Ztschr. f. physiol. Chemie 1899, Bd. XXVII.)
- Dafert, F. W. und Miklausz, R., I. Untersuchungen über die kohlenhaltige Masse der Kompositen. (Denkschr. d. Kais. Akad. d. Wiss. in Wien 1911, Bd. LXXXVII, p. 143.)
- Devaux, H., I. Réact. color. d. subst. pect. etc. (Linn. soc. Bordeaux 1901)
- , II. Pectose des par. cell. etc. (Ebenda 1903. Zitiert nach O. Richter, Die Fortschritte etc. p. 403.)
- Dischendorfer, O., I. Über die Bläunung in Pflanzenaschen durch Chlorzinkjod. (Ztschr. f. wiss. Mikr. 1921, Bd. XXXVIII, p. 138.)
- Geneau de Lamarlière, I. Recherches sur quelques réactions des membranes lignifiées. (Rev. gén. d. Bot. 1903, T. V, p. 149.)
- , II. Sur la présence dans certaines membranes cellulaires d'une substance à réactions aldéhydiques. (Bull. soc. bot. France 1903, p. 268)
- Gertz, O., I. Über die Verwendung von Anthocyanfarbstoffen für mikrochemische Zwecke. (Ztschr. f. wiss. Mikroskopie 1916, Bd. XXXIII, p. 7.)

- Gilson, E., I. La cristallisation de la cellulose et la composition chimique de la membrane cellulaire végétale. (La Cellule 1893, T. IX, fasc. 2, p. 337—441. Ref.: Ztschr. f. Mikroskopie 1893, Bd. X, p. 401.)
- , II. La subérine et les cellules du liège. (La Cellule etc. p. p. Carnoy 1890, T. VI, p. 63.)
- Giltay, E., I. Über das Verhalten von Hämatoxylin gegen Pflanzenmembranen. (Sitzungsber. d. K. Akad. d. Wiss. Amsterdam 1883, v. 27. Okt., p. 33.)
- Gjokič, G., I. Über die chemische Beschaffenheit der Zellhäute bei den Moosen. (Österr. bot. Ztschr. 1895, Nr. 9.)
- Grafe, V., I. Gummisubstanzen, Hemizellulosen, Pflanzenschleime, Pektinstoffe, Huminsubstanzen. (Abderhaldens Biochem. Handlex. 1911, Bd. II, p. 1)
- , II. Untersuchungen über die Holzsubstanz vom chemisch-physiologischen Standpunkte. (Sitzungsber. d. Kais. Akad. d. Wiss. in Wien 1904, Bd. CXIII.)
- Hannussek, T. F., I. Zur Entwicklungsgeschichte des Perikarps von Helianthus annuus. (Ber. d. Deutsch. bot. Ges. 1902, Bd. XX, p. 450.)
- , II. Neue Mitteilungen über die sogenannte Kohleschicht der Kompositen. (In Wiesners Festschr. Wien 1908, p. 139.)
- , III. Die „Kohleschicht“ im Perikarp der Kompositen. (Sitzungsber. d. Kais. Akad. d. Wiss. in Wien 1907, Bd. CXVI, p. 3.)
- , IV. Untersuchungen über die kohleähnliche Masse der Kompositen. (Denkschr. d. Kais. Akad. d. Wiss. in Wien 1911, Bd. LXXXVII, p. 94.)
- Hansteen Cranner, B., I. Zur Biochemie u. Physiologie der Grenzschichten lebender Pflanzenzellen. (Meldinger fra Norges Landbruks-hoiskole 1922, p. 1.)
- Hegler, R., I. Untersuchungen über die Organisation der Phykochromaceenzelle (Jahrb. f. wiss. Bot. 1901, Bd. XXXVI, p. 279)
- , II. Histochemische Untersuchungen verholzter Membranen. (Flora 1899.)
- Heinricher, E., I. Zur Biologie der Gattung Impatiens. (Flora 1888, Jg. 71, p. 163)
- Höhnelt, F. v., I. Histochemische Untersuchungen über d. Xylophilin u. d. Co-mlemin. (Sitzungsber. d. Kais. Akad. d. Wiss. in Wien 1877, Bd. LXXVI, p. 663)
- , II. Über den Kork und verkorkte Gewebe überhaupt. (Ebenda 76)
- , III. Einige Bemerkungen über die Kutikula. (Österr. bot. Ztschr. 1878, p. 81)
- Hubl, A., I. Über neue empfindliche Holzstoff- und Zellulose-Reagentien. (Bot. Zbl. 1885, p. 266. Ref. Ztschr. f. Mikroskopie, Bd. II, p. 259)
- , II. Chemiker-Ztg. 1885, p. 266.
- Klason, L., Beitr. zur Kenntnis der chemischen Zusammensetzung des Flechtenholzes. (Schrift. d. Ver. d. Zellstoff- und Papierchem. Heft 2. Berlin 1911)
- Klebs, G., I. Beiträge zur Physiologie der Pflanzenzelle. (Unters. d. Tübinger Instit. 1888, p. 489.)
- Klein, G., I. Zur Chemie der Zellhaut der Cyanophyceen. (Sitzungsber. d. Kais. Akad. d. Wiss. in Wien 1915, Abt. I, Bd. CXXIV, p. 529.)
- Kohl, G., I. Über die Organisation und Physiol. der Cyanophyceenzelle usw. Jena 1903.
- Kroemer, K., I. Wurzelhaut, Hypodermis und Endodermis der Angiospermen-wurzel. (Sep. Bibliotheka Botanica 1903, Heft 59, p. 20.)
- Kügler, K., I. Über das Suborin. (Diss. Straßburg 1884. Ferner Archiv f. Pharm. 1884, Bd. CCXXII, p. 217.)
- Kylin, H., I. Untersuchungen über die Biochemie der Meeresalgen. (Ztschr. f. physiol. Chemie, Bd. XCIV, p. 404.)



- Linsbauer, K., I. Zur Verbreitung d. Lignins bei Gefäßkryptogamen. (Österr. bot. Zeitschr. 1899, Nr. 9.)
- Mäule, C., I. Das Verhalten verholzter Membranen gegen Kaliumpermanganat, eine Holzreaktion neuer Art. Stuttgart 1901.
- Mangin, L., I. Bull. d. la Soc. Bot. d. France 1894, T. XLI
- , II. Sur l'emploi du rouge de ruthénium en anatomie végétale. (Comptes rend 1893, T. CXVI, p. 653.)
- , III. Propriétés et réactions des composés pectiques. (Journ. d. Bot. 1891 (V), 1892 (VI), 1893 (VII). Ref.: Justs Bot. Jahresber. 1893, Jahrg. 21, p. 528.)
- , IV. Observations sur les Diatomées. (Ann. d. science. nat. Bot. 1908, sér. 9, T. VIII, p. 177.)
- , V. Observations sur la membrane cellulosique. (Comptes rend. 1891, T. CXIII, p. 1069.)
- , VI. Observations sur la présence de la callose chez les Phanérogames. (Bull. d. la Soc. Bot. d. France 1892, p. 260. Ref.: Zeitschr. f. Mikroskopie 1894, Bd. XI, p. 129.)
- Mattirolo, O., I. Skatol e Carbazol, due nuovi reagenti per la membrana liquificata. (Zeitschr. f. wiss. Mikroskopie. Bd. II, p. 364.)
- Mirando, R., I. Recherches sur la composition chimique de la membrane et le morcellement du thalle chez les Siphonales. (Annal. d. science. nat., 9. sér. Paris 1913, T. XVIII, p. 163 u. 174.)
- Molisch, H., I. Ein neues Coniferenreagens. (Ber. d. deutsch. bot. Ges. 1886, p. 301.)
- , II. Ein neues Holzstoffreagens. (Sitzungsber. d. k. k. zool. bot. Ges. Wien 1887, Bd. XXXVII.)
- , III. Über Wurzelabscheidungen und deren Einwirkung auf org. Substanzen. (Sitzung d. Kais. Akad. d. Wiss. in Wien 1887, p. 107.)
- , IV. Kollenchymatische Korke. (Ber. d. Deutsch. bot. Ges. 1889, Bd. VII, p. 361.)
- , V. Studien über den Milchsaft und Schleimsaft der Pflanzen. Jena 1901, p. 83.
- , VI. Zur Kenntnis d. Thyllen, nebst Beobachtungen über Wandverdünnung. (Sitzungsber. d. Kais. Akad. d. Wiss. in Wien 1888, Bd. XXVII, p. 261.)
- , VII. Vergl. Anatomie des Holzes der Ebenaceen und ihrer Verwandten. (Ebenda 1879, Bd. LXXX, Juh.)
- , VIII. Beitr. z. Mikroch. Nr. 14. Über die Blauung von Pflanzenaschen durch Chlorzinkjod. (Ber. d. Deutsch. Bot. Ges. 1920.)
- Moore, J. Journ. Linn. Soc. 1891, A. 27, p. 501
- Nadelmann, H., I. Über die Schleimendosperme der Leguminosen. (Jahrb. f. wiss. Bot. 1890, Bd. XXI, p. 609.)
- Nestler, A., I. Die Schleimzellen der Laubblätter der Malvaceen. (Österr. bot. Zeitschr. 1898, Jahrg. 48, p. 94.)
- Nickel, E., I. Die Färbereaktionen d. Kohlenstoffverbindungen. Berlin 1890, p. 59.
- Niggli, M., I. Das Indol, ein Reagens auf verholzte Membranen. (Flora 1881, p. 545.)
- Nowopoprowsky, J., I. Über die Chlorzinkjodreaktion der Zellulose. (Beih. z. bot. Zbl. 1912, Bd. XXVIII, Abt. I, p. 90.)
- Plaut, M., I. Über die Veränderungen im anatomischen Bau der Wurzel während des Winters. (Jahrb. f. wiss. Bot. 1910, Bd. XLVIII.)
- , II. Mit Fettarbstoffen gefärbte Terpentinöle sowie über die Verwendung von Gelbglycerin als Holz- und Korkreagens. (Ber. d. Deutsch. bot. Ges. 1915, Bd. XXXIII, p. 133.)
- Praël, E., I. Vergl. Untersuchungen über Schutz und Kernholz der Laubbäume. (Jahrb. f. wiss. Bot. 1888, Bd. XIX, p. 1.)
- Pristley, J. H., I. Suberin and Cutin. (New Phytologist 1921, Vol. XX, p. 17—29.)

- Reichl, C., I. Zeitschr. f. anal. Chem. 1880, Bd. XIX, p. 537; DINGLERS Polytechn. Journ. Bd. CCXXXV, p. 232.
- Reiss, J. Über die Natur der Reservezellulose usw. (Landw. Jahrb. 1889, Bd. XVIII, p. 711.)
- Richter, K., I. Beitr. zur genaueren Kenntnis der chemischen Beschaffenheit der Zellmembranen bei den Pilzen. (Sitzungsber. d. Kais. Akad. d. Wiss. in Wien 1881, Bd. LXXXIII, p. 494.)
- Richter, O., I. Die Fortschritte der botanischen Mikrochemie usw. (Zeitschr. f. Mikroskopie 1905, Bd. XXII.)
- Rumpf, G., I. Rhizodermis, Hypodermis und Endodermis der Farnwurzel. (Diss. Marburg 1904, p. 13; Bibliotheca botanica, 62. Heft.)
- Schellenberg, H. C., I. Über Hemizellulosen als Reservestoffe bei unseren Waldbäumen. (Ber. d. Deutsch. bot. Ges. 1905, Bd. XXIII, p. 36.)
- , II. Beitr. z. Kenntn. d. verholzten Zellmembran. (Jahrb. f. wiss. Bot. 1896, Bd. XXIX, p. 237.)
- Schmidt, M. v., I. Zur Kenntnis der Korksubstanz. III. Mittel. (Sitzungsber. d. Kais. Akad. d. Wiss. in Wien, Jahrg. 1910, Bd. CXXIX, Abt. IIb, p. 241.)
- Schneider, H., I. Benzidin als Reagens auf Verholzung. (Zeitschr. f. wiss. Mikroskopie. Bd. XXXI, Hg. 1914, p. 68.)
- Schulze, E., I. Über die stickstofffreien Reservestoffe einiger Leguminosen. (Ber. d. Deutsch. bot. Ges. 1889, Bd. VI, p. 355.)
- Senft, E., I. Über das Vorkommen der sogenannten Phytomelane u. über die huminisierten Membranen bei Kryptogamen. (Zeitschr. d. Allg. ost. Apotheker-Ver. 1913, p. 612.)
- Singer, M., I. Beitr. zum näheren Kenntnis der Holzsubstanz und der verholzten Gewebe. (Akad. d. Wiss. in Wien 1882, Abt. I, Bd. LXXXV.)
- Strasburger, E., I. Botanisches Praktikum. 3. Aufl., Jena 1897, p. 598.
- Temme, I. Über Schutz- und Kernholz, seine Bildung und physiologische Bedeutung. (Landwirtsch. Jahrb. 1883, p. 173.)
- Tiemann und Haarmann, I. Ber. d. deutsch. chem. Ges. 1871, Bd. VII, p. 408.
- Tobler, F., I. Über die Brauchbarkeit von Mayer's Rutheniumrot als Reagens im Pektinstoffe. (Zeitschr. f. wiss. Mikroskopie usw. Jahrg. 1906, Bd. XXIII, p. 182.)
- Tschitch, A., I. Angewandte Anatomie 1889, p. 180, Wien-Leipzig.
- , II. Über Pektin und Protopektin. (Ber. d. deutsch. pharm. Ges. 1907, Jahrg. 17, p. 237.)
- und Will, A., I. Über die Sekretbildung im Wund- und Kernholze. (Archiv d. Pharm. 1899, Bd. CCXXXVII, p. 369.)
- Viehöver, A., I. Über den Nachweis von Chitin bei Bakterien. (Ber. d. Deutsch. bot. Ges., 1912, Jahrg. 30, p. 443.)
- Vouk, V., I. Zur Kenntnis der mikrochemischen Chitinreaktion. (Ber. d. Deutsch. bot. Ges., Bd. XXXIII, 1915, p. 413.)
- Walliczek, H., I. Studien über die Membranschleime vegetativer Organe. (Jahrb. f. wiss. Bot. 1893, Bd. XXV, p. 209.)
- Westei, D. H., I. Studien über das Chitin. (Archiv d. Pharm. 1909, Bd. CCXLIII, p. 303.)
- Wettstein, F. v., I. Das Vorkommen von Chitin und seine Verwertung als system-phylogenetisches Merkmal im Pflanzenreich. Sitzungsber. d. Akad. d. Wiss. i. Wien, Abt. I, 1921.
- Whooler und Tollens, I. Ber. d. chem. Ges., Bd. XXII, p. 1046.
- Wiesner, J., I. Anatomisches und Histochemisches über das Zuckerrohr. (KARSTENS Bot. Untersuchungen 1867, Berl., Bd. I, p. 120.)

- Wiesner, J., II. Note über das Verhalten des Phloroglucins und einiger verwandter Körper zu verholzten Zellmembran. (Sitzungsber. d. Kais. Akad. d. Wiss. in Wien 1878, Bd. LXXVII, Abt. I, Jännerheft.)
- , III. Die Rohstoffe des Pflanzenreichs. Gummilarten. 2. Aufl., Leipzig 1900, p. 48.
- , IV. Über das Gummiforment. (Sitzungsber. d. Kais. Akad. d. Wiss. in Wien 1885, Bd. XCII, Abt. I, p. 50 u. 59.)
- Winterstein, E., I. Über das pflanzliche Amyloid. (Zeitschr. f. physiol. Chemie 1892, Bd. XVII, p. 353.)
- , II. Zur Kenntnis der Pilzzellulose. (Ber. d. Deutsch. bot. Ges. 1893, Bd. XI, S. 441.)
- Wissoltingh, C. v., I. Mikrochemische Untersuchungen über die Zellwände der Fungi. (Jahrb. f. wiss. Bot. 1897, Bd. XXXI.)
- , II. Sur la paroi des cellules subéreuses. (Arch. Néerl. d. science exactes nat. Harlem 1888, p. 253. Ref.: Just, Jahrb. 1888, Jahrg. 16, p. 689.)
- , III. Sur la lamelle subéreuse et la subérine. (Ebenda T. XXVI, p. 305. Ref.: Bot. Ztg. 1893, p. 247.)
- , IV. Sur la cuticularisation et la cutine. (Arch. Néerl. d. science exactes et nat. 1895, T. XXVIII, p. 373. Ref.: Zeitschr. f. wiss. Mikroskopie 1895, Bd. XII, p. 529.)
- , V. Über die Anwendung der in der organ. Chemie gebräuchlichen Reaktionen bei der phytomikrochem. Untersuchung. (Folia microbiol. Bd. III, 1915, Heft 3.)
- Zacharias, E., I. Über Sekretbehälter mit verkorkten Membranen. (Bot. Ztg. 1879, Jahrg. 37, p. 617.)
- Zeisel, S., I. Zur Kenntnis der Entstehung der Korksubstanz. (Journ. f. prakt. Chem. 1911, N. F. Bd. LXXXIV, p. 317; 1912, N. F., Bd. LXXXV, p. 226.)
- , II. Chemische Charakteristik und Konstitution der Gummilarten. (Wiesners Rohstoffe d. Pflanzenreichs, 2. Aufl., Leipzig 1900, Bd. I, p. 60.)
- Zemplén-Selmeczibánya, I. Stickstoffhaltige Kohlehydrate. (Abderhaldens Biochem. Handlex. 1911, Bd. II, p. 527.)
- Ziegenspeck, H., I. Amyloid in jugendlichen Pflanzenorganen als vermutliches Zwischenprodukt bei der Bildung von Wandkohlehydraten. (Ber. d. Deutsch. bot. Ges. 1919, p. 273.)
- Zimmermann, A., I. Die botanische Mikrotechnik. Tübingen 1892
- , II. Mikrochemische Reaktionen von Kork und Kutikula. (Zeitschr. f. wiss. Mikroskopie 1892, Bd. IX, p. 58.)

## II. Einschlüsse des Kerns, Plasmas, der Chromatophoren und des Zellsafts.

Ebenso wie die Membranstoffe aus praktischen Gründen im Zusammenhang behandelt wurden, so soll das auch bezüglich der Einschlüsse des Plasmas und des Kerns geschehen, soweit das einschlägige Material nicht schon an anderer Stelle in Betracht gezogen wurde. Von einer Schilderung der morphologischen Verhältnisse von Kern und Plasma sehe ich hier ab, da dies nicht in den Rahmen des Werkes gehört, das ja die Schilderung der Chemie bezweckt. Es wird daher auf die Fixierungs- und Färbungsmethoden in ihrer Anwendung auf Kern und Plasma nur insoweit Rücksicht genommen werden, als sie mit einem chemischen Nachweis einer Substanz zusammenhängen. -- Gleichwie die Zellhaut ein sehr kompliziertes chemisches Gebilde darstellt, so auch das Plasma und der Kern. Dank der Untersuchungen von REINKE und RODEWALD (I) über die Chemie des Plasmodiums von *Aethalium septium* weiß man, daß das Plasma zahlreiche mineralische und organische Substanzen enthält und daß unter den letzteren die Eiweißkörper vorherrschen. Für den Kern gilt dasselbe, nur sind für ihn die Nukleerverbindungen charakteristisch (vgl. p. 317). Der große Gehalt an Eiweiß im Kern und Plasma ist die Ursache davon, daß man häufig in der Zelle mikrochemisch Eiweißreaktionen erhält und daß das Eiweiß sogar im Kern oder im Plasma oder in beiden auskristallisieren kann.

### 1. Eiweißkristalle im Kern.

Es ist eine auffallende Erscheinung, daß der Zellkern gewisse Stoffe, die im Plasma häufig vorkommen, niemals führt. So hat man bisher in keinem Zellkern Stärke, Kalkoxalat, Farbstoffe oder Gerbstoffe gefunden; entgegengesetzte Angaben dürften auf unrichtigen Beobachtungen beruhen. Umgekehrt treten Proteinkristalle im Kerne nicht selten auf.

a) Direkte Beobachtung. In einzelnen Fällen sind sie so groß und deutlich ausgebildet, daß man sie ohne weiteres im Mikroskop erkennen kann. RADLKOFFER (I) hat bereits 1858 die Eiweißkristalle im Zellkern der *Lathraea Squamaria* L. entdeckt und genau beschrieben. Sie können in den Schnitten aus der Mitte eben befruchteter Samenknospen beobachtet werden. Die Kristalle haben gewöhnlich die Gestalt dünner quadratischer oder rektangulärer Plättchen, die meist zu mehreren, wie die Münzen in einer Geldrolle, beisammen liegen. Nach HEINRICHER (I) kommen solche Zellkernkristalle nicht bloß in den zur Blütenbildung gelangenden Arten der *Lathraea* vor, sondern auch in allen anderen Organen (Wurzel, Haustorium usw.). Überdies auch frei

im Zellplasma, doch sind sie hier sehr klein. Ein konstantes Vorkommen von Eiweißkristallen stellte KLEIN (I) fest für die Kerne in den Blattepidermiszellen von *Pinguicula alpina*, RUSSOW (I) für die Zellen der Blasenwand und der Borstenhaare bei *Utricularia*. LERTZEN (I) insbesondere für die Oberhautzellen der Perigonzipfel und Staubgefäße von *Galtonia (Hyacinthus) candicans*, RACHORSKI (II) für *Albuca* und DUFOUR (I) für die Epidermiszellen von *Campanula thyrsoidea* L. In den beiden letzten Fällen bilden sie Stäbchen. Bei allen diesen Pflanzen treten die Kristalle so scharf hervor, daß man sie ohne weiteres als Kristalle und auf Grund der Eiweißreaktionen (vgl. p. 314ff.) als Eiweißkristalle ansprechen kann. Häufig sind die Kriställchen aber so klein oder so unvollkommen ausgebildet, daß es besonderer Fixierungs- und

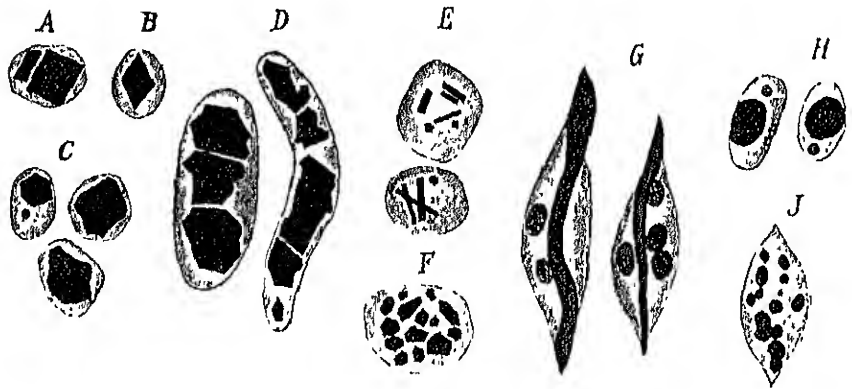


Fig. 112

Zellkerne mit Proteinkristalloiden. *A* aus dem Schwammparenchym von *Melampyrum arvense*; *B* aus der Fruchtknotenwand von *Russelia parva*; *C* aus dem Palisadenparenchym von *Candollea adnata*; *D* aus der Fruchtknotenwandung von *Alectrolophus major*; *E* aus der Epidermis von *Polypodium caespitosum*; *F* aus der Fruchtknotenwandung von *Melampyrum pratense*; *G* aus der Epidermis der Fruchtknotenwandung von *Campanula trachelium*; *H* aus der Blattepidermis von *Lophospermum scandens*; *I* aus dem Schwammparenchym von *Adiantum macrophyllum*. Die Kristalloide sind überall schwarz, die Nukleolen, wo sie sichtbar sind, schraffiert. Nach ZIMMERMANN (III, 44)

Färbungsmethoden bedarf, um die Kristalle im Zellkern sichtbar zu machen und von den oft ähnlichen Nukleolen zu unterscheiden.

b) Färbung. Um die Färbungstechnik der Zellkern-Eiweißkristalle hat sich ZIMMERMANN (I, II, III) Verdienste erworben. Er empfiehlt hauptsächlich Säurefuchsin und eine Doppelfärbung von Hämatoxylin und Säurefuchsin und verfährt in folgender Weise (III, 45). Zunächst wird das Objekt mit konzentrierter alkoholischer Sublimatlösung fixiert. „Soll dieses mit Säurefuchsin allein gefärbt werden, so kommen die gut ausgewaschenen Schnitte zunächst in eine 0,2proz. Lösung von Säurefuchsin (oder Fuchsin S) in destilliertem Wasser, der man, um sie haltbarer zu machen, etwas Kampfer zusetzen kann. In dieser Lösung verweilen die Schnitte mindestens mehrere Stunden, am besten 24 Stunden oder auch beliebig länger. Darauf werden sie möglichst schnell im fließenden Wasser ausgewaschen,

und zwar ist die hierfür erforderliche Zeit für die verschiedenen Objekte eine sehr verschiedene und schwankt zwischen wenigen Minuten und mehreren Stunden. Sie läßt sich aber leicht durch einige Versuche feststellen. Nach dem Auswaschen werden die Präparate dann in der gewöhnlichen Weise in Canadabalsam übertragen. Diese Methode liefert sowohl bei Mikrotom- als auch Freihandschnitten eine sehr gute Färbung der Zellkernkristalloide. Dieselben sind, wenn die Zeit des Auswaschens einigermaßen richtig getroffen ist, noch intensiv gefärbt, wenn das Kerngerüst und auch die Nukleolen schon vollständig ausgewaschen sind.

Die Doppelfärbung mit Hämatoxylin und Säurefuchsin führt man zweckmäßig in der Weise aus, daß man die betreffenden Objekte vor dem Einbetten in Paraffin mit DELAFIELDSchem Hämatoxylin durchfärbt und erst die aus denselben angefertigten Mikrotomschnitte in der oben beschriebenen Weise mit Säurefuchsin nachfärbt. Es erscheinen dann an gut gelungenen Präparaten Kerngerüst und Nukleolen violett, die Kristalloide aber rot.“ P. MAVERscher Hamalaun (vgl. p. 22) darf hierzu nicht benutzt werden, da er bei der Fixierung mit Sublimat nur das Kerngerüst färbt. Durch diese und andere Tinktionsmethoden ist es ZIMMERMANN gelungen, zu zeigen, daß Zellkerneiweißkristalle viel weiter verbreitet sind, als man geglaubt hat (Fig. 112). Sie wurden bisher nach einer von ZIMMERMANN (III, 46) herrührenden und durch mich ergänzten Zusammenstellung bei folgenden Pflanzen konstatiert:

Linaceae, *Linum austriacum* (ZIMMERMANN II, 126).

Haloragaceae, *Hippuris vulgaris* (ZIMMERMANN II, 126).

Candolleaceae, *Candollea adnata* (RAUNKJÄR I).

Campanulaceae, *Campanula* und *Phyteuma* spec. (VOGL I, SCHENK I, 23, Anm.; ZIMMERMANN II, 71 und 127).

Ericaceae, *Pirola* spec. (RAUNKJÄR I).

Oleaceae, *Fraxinus* (SCHWAR I), bei 8 von 9 untersuchten Arten (ZIMMERMANN II, 128).

Gentianeae, *Menyanthes* und *Limnanthesum* (ZIMMERMANN II, 129); *Cotylanthera tenuis* (FIGDOR I).

Convulvulaceae, *Convolvulus* sp. (BORZI I).

Serophulariaceae, *Lathraea* (RADIKOFER I), bei 21 von 25 untersuchten Arten (ZIMMERMANN II, 130), *Alectrolophus* (SPERLICH I).

Lentibulariaceae, *Pinguicula* (KLEIN I), *Utricularia* (RUSSOW I).

Gesneriaceae, *Aeschynanthus* (RAUNKJÄR I), *Gloxinia* (ZIMMERMANN II, 136).

Papilionaceae, *Astragalus glycyphyllos* (MRAZEK I, 22).

Bignoniaceae, *Bignonia*, *Catalpa*, *Tecoma* (ZIMMERMANN II, 137).

Verbenaceae, *Clerodendron*, *Verbena* (ZIMMERMANN II, 137).

Phytolaccaceae, *Ladenbergia*, *Rivina* (ZIMMERMANN II, 137).

Urticaceae, *Urtica* (KALLÉN I).

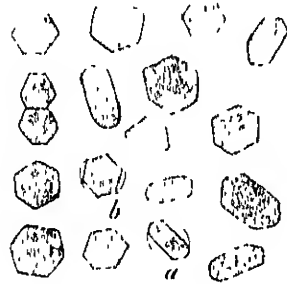


Fig. 113  
Proteinkristalloide im  
Milchsafte von *Amorpho-*  
*phallus Rivieri*. Bei *a* und *b*  
die Vakuolenhaut teilweise  
abgehoben. Vergr. 440

Liliaceae, *Galtonia* (LEITGER I, 113); *Scilla* (HUE I); *Chlorophytum comosum*, *Agapanthus umbellatus*, *Allium porum* (SOLLA I); *Ornithogalum caudatum* (STRASBURGER I, 4. Pens.).

Pteridophyten, 16 Arten der Polypodiaceen, ferner *Ceratopteris* und *Ancimia* (ZIMMERMANN II).

Musaceae, *Musa* (MOLISCH I, 177).

Amarylloideae, *Nerine curvifolia* Herb (MOLISCH II, 92).

Agaricaceae, (BAMBEKE I).

## 2. Eiweißkristalle und Eiweißgebilde im Plasma und Zellsaft.

Im Zellinhalt können außerhalb des Kernes gleichfalls Eiweißkristalle oder ähnliche Gebilde entweder im Plasma oder Zellsaft auftreten. Sie haben entweder regelmäßige Kristallform, wie z. B. in den Parenchymzellen knapp unter dem Hautgewebe der Kartoffelknolle, im Milchsaft von *Musa*-Arten, von *Amorphophallus* oder sie sind spindel-,

faden-, ring-, nadel-, peitschenförmig wie bei *Epiphyllum*-Arten und anderen Pflanzen oder sie haben die Form von Körnern.



Fig. 114.  
Proteinkristalloide in Vakuolen des Milchsaftes von *Musa chinensis* Sweet. Bei *a* Vakuolenhaut teilweise vom Kristall abgehoben, bei *a*, ganz abgehoben, bei *b* und *c* Bündel von Kristallen.  
Vergr. 950.

*Amorphophallus Rivieri* Dur. Der etwas milchig getrübbte Saft enthält unter anderem Kristalloide in mäßig großer Zahl, meist sechseckige Tafeln von großer Regelmäßigkeit. Einzeln oder zu zweien verwachsen (MOLISCH II, 27). Fig. 113.

*Musa*. Verschiedene Arten führen im Milchsaft zahlreiche, mitunter mannigfaltig geformte Kristalle, wahrscheinlich eiweißartiger Natur. Bei *Musa chinensis* Sweet haben sie Stäbchen- oder Prismenform. Es ist von Interesse, daß sie nicht frei im Milchsaft liegen, sondern in Vakuolen eingebettet sind, gewöhnlich 1—2 und mehr (Fig. 114). *Musa Ensete* Bruce enthält ebenfalls die erwähnten Kristallvakuolen, aber neben diesen noch sonderbar geformte Proteinkörper, die sich von den früheren, abgesehen von ihrer Gestalt, dadurch unterscheiden, daß sie von Wasser leicht alteriert werden, darin leicht aufquellen und sich dabei in kugelige oder runde, unregelmäßige, schwach lichtbrechende Gebilde verwandeln. Sie besitzen Nadel-, Spindel-, Peitschen-, Ellipsen-, Ring- oder Tennis-Racket-Gestalt und erinnern durch diese Formen vielfach an jene merkwürdigen Proteinkörper, die ich seinerzeit in den Flachsprossen von *Epiphyllum* aufgefunden habe (MOLISCH II, 28).

*Epiphyllum*-Proteinkörper. Alle untersuchten *Epiphyllum*-Arten zeigen stellenweise in den Epidermiszellen und den darunterliegenden Grundgewebszellen sonderbar gestaltete Eiweißkörper: Spindeln, Ringe und Fäden (Fig. 115A). Sie sind mitunter gestreift, weil fibrillär gebaut, und zeigen die Eigenschaften der Eiweißkörper und die Eiweißreaktionen (MOLISCH III u. IV).

Es würde zu weit führen, alle bekannt gewordenen Vorkommnisse von Plasma- und Zellsaft-Kristalloiden einzeln zu schildern; es wird genügen, sie in einer Tabelle (S. 370 und 371) übersichtlich zusammenzustellen.

Bezüglich mancher Inhaltskörper bleibt es derzeit noch fraglich, ob sie zu den Proteinkörpern gehören oder nicht.

Beispiele:

*Jatropha*-Arten. Im Milchsaft von *Jatropha glauca* hort., *J. gossypifolia* L. und *J. podagrica* Hook kommen Kristalle in Form

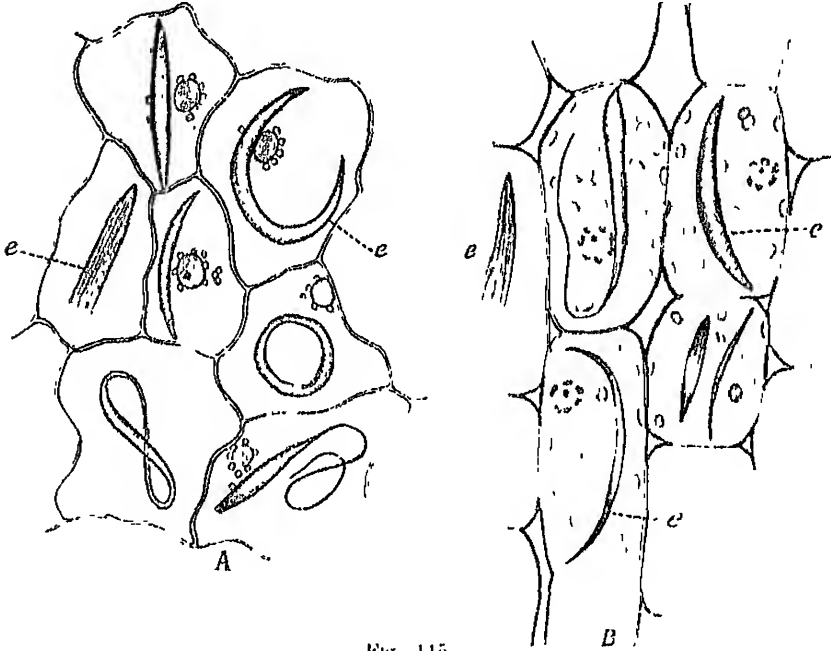


Fig. 115.

- A. Eiweißgebilde *e* aus der Epidermis von *Epiphyllum*. Vergr. 100 (Nach Molisch III)  
 B. Eiweißgebilde *e* aus dem Stamme von *Opuntia monacantha*. Vergr. 180 (Nach Gieckhorn I.)

quadratischer oder abgerundeter Tafeln von 3 bis 14  $\mu$  vor. Sie sind gewöhnlich einzeln oder manchmal 2 bis 3 miteinander verwachsen, nicht selten parallel zum Umfang geschichtet. Sie zeigen verschiedene, auch Eiweißkörpern zukommende Eigenschaften, doch geben sie die Eiweißreaktionen nicht oder nur undeutlich (Molisch II, 33).

*Drosera* und *Dionaea*. GARDINER (1) fand in den meisten Oberhautzellen von *Drosera dichotoma* und *Dionaea* Spindeln und Nadeln, die er mit den wohl unnötigen Namen Plastoiden und Rhabdoiden bezeichnete. Durch Alkohol, Chromsäure und Pikrinsäure werden sie fixiert, färben sich nach der Fixierung mit Hoffmannsblau, verquellen oder verschwinden in verdünntem Alkohol. Sie bestehen aus Proteinkörpern.



## Cytoplasma-Zellsaft-Eiweißkristalloide.

Familie	Name	Organ oder Gewebe	Form	Entdecker
Phanerogamen.				
Amaryllloideae	Tecophilaea cyanocroca Nerine undulata (L.) Herb Nerine flexuosa Herb.	Oberhaut der Knolle Schleimsaft	Spindeln, Ringe usw. Spindeln, Nadeln usw.	WAKKER (II) MOLISCH (II, 91)
Apocynaceae	Nerum Oleander L. u. Allamanda Schottii Hook	"		
Araceae	Pothos scandens L. Amorphophallus Rivieri	Milchröhren Epidermis Milchröhren	Kleine Kristalle Tafeln "	MOLISCH (II, 27) WAKKER (I) MOLISCH (II, 27)
Balsamineae	Impatiens-Arten, einige	Fruchtknoten Siebteil d. Stengels und Blattes	Spindeln, Ringe	ANADEI (I)
Cactaceae	Epiphyllum-Arten Opuntia virens Opuntia. 15 Arten Peireskia	Laubprosse hauptsächl. Rindenparenchym Laubblatt	Spindeln, Fäden Ringe usw. Spindeln "	MOLISCH (I) LEITGER, HEINRICHER (II) GICKLHORN (I) MOLISCH (II)
Campanulaceae	Platycodon grandiflorum DC	"	rundlich	ZIMMERMANN (II, 73)
Commelinaceae	Dichorisandra ovata hort	"	Spindeln, Polyeder	MOLISCH (II, 93)
Coniferae	Abies pectinata Lam. " Nordmanniana Spach	Schleimgefäße prim. Rinde Schleimschlauche d. prim. Rinde		v. HÖHNEL (I)
Euphorbiaceae	Euphorbia trigona " grandifolia	Rindengewebe "	kugelig	LEITGER (II, 315)
Iridaceae	Sisyrinchium Bermudicum L	"	Spindeln	DUFOUR (I). STOCK (I)
Leguminosae	7 Gattungen	Blutenfelle	Spindeln, Stäbchen usw.	BACCARINI (I)

	Alle untersuchten Papilionaceen	Siebröhren	Spindeln, Stäbchen usw.	MRAZEK (I)
Musaceae . . . . .	Mimosa pegazzani	Milchsaft der Siebröhrenzellen	Spindeln, Keulen. Halbmonde usw. Prismen. Spindeln usw.	MOLISCH. MRAZEK (I)
	Musa-Arten			MOLISCH (II, 28)
Nepenthaceae . . . . .	Nepenthes melampyroides	Rhizom	Spindeln rundlich	HEINRICHER (III)
Nymphaeaceae . . . . .	Nuphar advena	Blatt	Nadeln	ZIMMERMANN (II, 156)
Orchideae . . . . .	Triaepia tortilis Lindl.	..	spindelförmig, mehr spitzig	ZIMMERMANN (II, 157)
	Vanda furva		Spindeln, Ringe, Schleifen	ZIMMERMANN (II, 156)
	Oncidium macrodon Bat.	..	Spindeln	MIKOSCH (I)
Passifloraceae . . . . .	Passiflora corallina L.	..	Prismen	ZIMMERMANN (II, 157)
Phytolaccaceae . . . . .	Phytolacca abyssinica Hoff.	..	sehr klein	KRUCH (I)
Rhinantaceae . . . . .	Lathraea Squamaria	alle Organe		HEINRICHER (I, 28)
Scrophulariaceae . . . . .	Gratiola officinalis	Fruchtknotenwandung und Blatt-Knolle	Nadeln	ZIMMERMANN (II, 157)
Solanaceae . . . . .	Solanum tuberosum		Würfel	BAYLER COHN (I)
	Capsicum annuum	Fruchthaut	(SCHIMPER, I) Prismen	NESTLER (I)
Kryptogamen				
Algae . . . . .	Viele marine Florophoren und zwei Chlorophyten	Thallus	meist oktaederähnlich	KLEIN (II)
	Viele Cyanophyten			HEGLER (I, 34)
	Codiaceen			BERTHOLD (I, 57)
	Derbesiaceen			WAKNER, (I, 48)
Fungi. . . . .	Pilobolus crystallinus Wigg.	Städzellen d. Sporangiums	Würfel	KLEIN (III)
	Fast alle Mucorinen	Sporangiumstiele		V. LEZ. (I)
	Dimargaris crystallina v. Tough			
Filices . . . . .	Polypodium iriochloides Lam.	Blattepidermis	hexag. Pyramiden (SCHIMPER I)	KRAUS (I)

Wie aus den Tabellen hervorgeht, sind, abgesehen von Aleuronkörnern, Proteinkristalloide und verwandte Gebilde im Pflanzenreiche sowohl bei Krypto-, wie bei Phanerogamen ziemlich verbreitet. Sie liegen entweder direkt im Plasma oder in Vakuolen, doch ist es nicht immer zu entscheiden, ob das eine oder das andere der Fall ist.

Wer sich über die weitere Verbreitung der Kern- und Plasma-Eiweißkristalle unterrichten will, sei besonders aufmerksam gemacht auf die ausführlichen Ausführungen MEYERS (VII, 46—102).

Die vorliegenden Untersuchungen sprechen dafür, daß diese Eiweißkörper, ebenso wie die gleich zu behandelnden Proteinkörner eine in ernährungsphysiologischer Beziehung wichtige Rolle spielen, bald als Baustoff, bald als Reservestoff fungieren, je nach den Bedürfnissen der Pflanze (MOLISCH III, 202; HEINRICHER I; STOCK I, 233; SPERLICH I; GICKLHORN I, 13; SOLLA I, 123; MEYER VII, 79 u. a.).

### 3. Die Proteinkörner.

#### a) Im Samen.

In allen reifen Samen, hauptsächlich in fettreichen, kommen körnige, dem Stärkemehl ähnliche, aber hauptsächlich aus Eiweiß bestehende Bildungen vor, die von HARRIG (1) entdeckt und von ihm

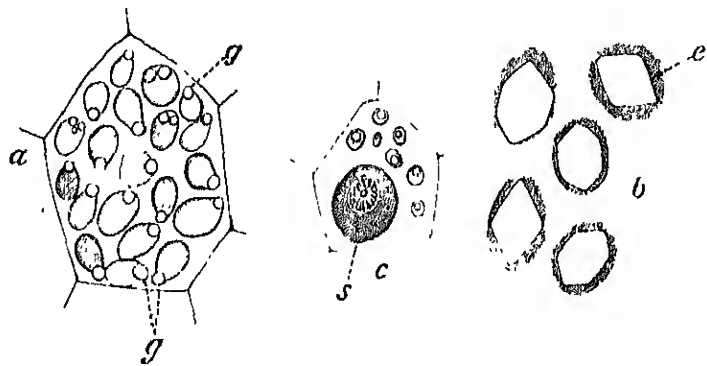


Fig. 116.  
Proteinkörner

- a) Zelle aus dem Endosperm von *Ricinus communis*, erfüllt mit Proteinkörnern. Der helle Hof in denselben ist das Globoid g. Olivenölpräparat. Vergr. 250.
- b) Einzelne Proteinkörner derselben Zelle nach Behandlung mit Pikrinsäure und Eosin. Die Eiweißkristalle e treten deutlich hervor, die Globoide sind verschwunden. Vergr. 350.
- c) Zelle aus dem Samen von *Vitis vinifera* mit einem großen Proteinkorn (Solitar) und einigen kleineren. Das große s enthält eine Duse von oxalsaurem Kalk. Olivenölpräparat. Vergr. 250.

„Aleuron“ oder Klebermehl, von HOLLE aber Proteinkörner benannt wurden. Die grundlegende Arbeit über Proteinkörner verdankt man PFEFFER (1).

Da die Aleuronkörner sehr häufig im Fett eingebettet sind, so wird man zur Vermeidung einer Emulsion die Untersuchung der Schnitte gewöhnlich nicht in Wasser vornehmen, sondern entweder in Flüssig-

keiten, die sich mit Fett leicht mischen (Olivenöl, Glycerin usw.), oder man wird vorher das Fett durch eine entsprechende Vorbehandlung der Schnitte mit Alkohol, Äther oder Petroläther befreien. Im übrigen wird sich die Behandlung der Schnitte danach richten, was man in dem Proteinkorn sehen oder deutlich machen will.

Die Proteinkörner bestehen aus einer dünnen Membran und einer eiweißartigen Grundmasse, in der dreierlei Einschlüsse vorkommen können; a) kristallisiertes Eiweiß (Kristalloide), b) Globoide und c) allerdings selten Kristalle von Kalkoxalat (Fig. 116).

Die Membran stellt ein äußerst zartes Häutchen dar, das in verdünnten Alkalien und Säuren unlöslich ist und aus Eiweiß besteht. Bei allmählicher Auflösung der Grundmasse oder der Einschlüsse in sehr verdünnter Kalilauge, Salz- oder Essigsäure wird es sehr deutlich (Pfeffer I). Nach Lüntke (I) auch bei Behandlung mit Kalkwasser, das die Grundmasse zuerst löst, die Membran sehr gut differenziert und später unter Aufquellung löst.

Die amorphe Grundmasse besteht aus Eiweiß, verhält sich aber bei verschiedenen Pflanzen nicht gleich (Pfeffer I, Vines I). Sie ist im Wasser unlöslich oder ganz oder teilweise löslich. Sie ist stets leicht löslich in verdünnter Kalilauge, Ammoniaklösung und konzentrierter wässriger Natriumphosphatlösung. Es gibt Aleuronkörner, die ganz aus Grundmasse bestehen (Kotyledonen der Erbse, Bohne, Aleuronschicht der Getreidefrüchte, Mais, Weizen, Roggen, Gerste usw.).

Die Eiweißkristalloide gehören zu den gewöhnlichsten Inhaltskörpern der Proteinkörner. Sie sind oft direkt nicht sichtbar, da sie im Lichtbrechungsvermögen mit der Grundmasse ziemlich übereinstimmen und sich daher nicht optisch differenzieren. Laßt man zu einem unter Deckglas befindlichen Schnitt, z. B. durch das Endosperm von *Ricinus communis*, Wasser zufließen, so treten die Kristalloide, die in Wasser stets unlöslich sind, oft deutlich hervor. Durch Behandlung mit konzentrierter wässriger Natriumphosphatlösung können die Kristalloide gleichfalls gut sichtbar gemacht werden, weil alle anderen Bestandteile des Proteinkorns nach längerer Zeit gelöst werden und dann nur die Kristalloide zurückbleiben. Sie gehören nach Schimper (I) teils dem regulären, teils dem hexagonalen Kristallsystem an, sind in letzterem Falle schwach doppelbrechend und geben ebenso wie die Grundmasse die auf p. 314ff. erwähnten Eiweißreaktionen.

Besser können die Kristalloide durch Fixierung und Färbung sichtbar gemacht werden (Fig. 116). Solche Methoden sind von Overton (I), Poulsen (I), Strassburger (I, 98) und von Krasser (I) ausgearbeitet worden. Krasser hat zwei Methoden (a und b) angegeben:

a) Pikrin-Eosin. Die Schnitte werden mit Pikrinsäure, gelöst in absolutem Alkohol, fixiert, mit starkem Alkohol ausgewaschen, mit alkoholischer Eosinlösung gefärbt, mit absolutem Alkohol abgetont, durch Nelkenöl aufgehellt und in Canadabalsam eingeschlossen. Die Färbung vollzieht sich sehr rasch. In gelungenen Präparaten von *Ricinus* erscheint die Grundsubstanz dunkelrot, das Kristalloid gelb und scharf und das Globoid nahezu farblos bis rötlich. Das Globoid habe ich häufig in solchen Präparaten gar nicht gesehen.

b) Pikrin-Nigrosin. Nigrosin wird in einer gesättigten Lösung von Pikrinsäure in absolutem Alkohol etwa bis zur Sättigung gelöst.

Die in diese Lösung eingelegten Schnitte werden von Zeit zu Zeit in Alkohol kontrolliert. Sobald die Grunds substanz blau erscheint, wird die Tinktion unterbrochen. Die weitere Behandlung wie vorher.

Die Grunds substanz ist bei gelungenen Präparaten blau, das Globoid farblos und das Kristalloid gelbgrün. Die Krassenschen Methoden haben sich besonders bei Ricinus bewährt.

Tschirch und Kritzler (J) haben die Natur des Aleuronproteins auf Grund seines Verhaltens zu Wasser, Kochsalzlösungen verschiedener Konzentration, Magnesiumsulfat-, Ammonsulfat- und Monokaliumsulfatlösungen geprüft und gelangen zu dem Resultate, daß die untersuchten Proteinkörner (*Linum usitatissimum*, *Ricinus communis*, *Bertholletia excelsa* usw.) hauptsächlich aus Globulinen bestehen, und daß sich die Kristalloide mindestens aus zwei naheverwandten Globulinen zusammensetzen. Auch die Globoide enthalten nach Tschirch und Kritzler Proteinsubstanz in Form von Globulinen.

Die Globoide sind amorph, isotrop, meist rundlich, seltener kranz-, wurm-, biskuit- oder traubenförmig, bald zu ein, bald zwei bis mehreren vorhanden und häufig exzentrisch gelegen. In verdünnten Säuren (Essig-, Pikrin-, Salzsäure) lösen sich die Globoide, hingegen nicht in verdünnter Kalilauge, in Wasser oder Alkohol. Sie färben sich im Gegensatz zu den Kristalloiden nicht mit Jodlösung, machen in Öl betrachtet den Eindruck von Vakuolen und bestehen nach Pfeffer (I, 472) aus dem Calcium- und Magnesiumsalz einer gepaarten Phosphorsäure mit einem organischen Paarling.

Man kann sie sehr deutlich zur Anschauung bringen, wenn man Schnitte entfettet und das Eiweiß in verdünnter Kalilauge lost. Es bleiben dann die Globoide in Gestalt zahlreicher Kugeln zurück. Daß die Globoide unverbrennliche Substanz enthalten, kann man leicht erweisen, wenn man derartig behandelte Schnitte nach dem Auswaschen des Kali auf einem starken Deckglas in ein Wassertropfen legt und das Ganze hin- und herbewegt. Es fallen dabei einzelne Globoide aus dem Schnitte heraus und bleiben beim Eintrocknen frei auf dem Deckglas liegen. Erhitzt man über der Flamme, so schwarzen sie sich zu nächst. Verbiegt sich das Deckglas, so legt man es auf ein Platinblech und erhitzt dann weiter, bis die Globoide unterm Mikroskop ganz weiß erscheinen. Mit Hilfe des Phosphorsalzes kann dann leicht Mg (vgl. p. 58) und mit den entsprechenden Reagentien auch Kalk und Phosphorsäure nachgewiesen werden.

Die Kalkoxalatkrystalle sind in Aleuronkornern nicht gerade häufig. Man kann sie mit dem Polarisationsmikroskop leicht ausfindig machen, da sie darin bei gekreuzten Nikols stark aufleuchten. Schafft man das Fett der Schnitte durch Äther weg, die Grunds substanz und die Eiweißkrystalloide durch verdünntes Kali und die Globoide durch verdünnte Essigsäure, dann bleiben die Oxalatkrystalle allein übrig. Sie bilden Nadeln, Tafeln, Drusen (*Vitis vinifera*) usw. und liegen entweder in den Globoiden oder in der Grunds substanz.

#### β) Im Milchsafft.

Molisch (I, 21) hat zuerst auch im Milchsafft zweier Moreen, der *Cecropia peltata* und des *Brosimum microcarpum* Proteinkörper nach-

gewiesen, die sich aber insofern von den Proteinkörnern der Samen unterscheiden, daß sie niemals Einschlüsse in Form von Eiweißkristalloiden, Globoiden oder Kalkoxalatkristallen erkennen lassen.

*Cecropia peltata*. Der Milchsafte dieser Pflanze enthält eine ungeheure Menge von Proteinkörnern, die Stärkekörnern äußerlich ähneln. Sie erscheinen kreisrund, brennen-, linsen-, spindelförmig, bikonvex, abgerundet, polygonal oder ganz unregelmäßig geformt. Analog den Stärkekörnern sind sie entweder einfach oder zwei- bis mehrfach zusammengesetzt (Fig. 117). Die großen und größten messen 6 bis 17  $\mu$ . Sie schrumpfen beim Eintrocknen bedeutend, lösen sich im Wasser ganz oder größtenteils auf. Erwärmt man den Milchsafte bis zum Sieden oder behandelt man mit absolutem Alkohol, so werden sie stark lichtbrechend und sind nunmehr, weil sie koagulieren, nicht mehr im Wasser löslich. Sie sind unlöslich in absolutem Alkohol, Äther, Benzol, verdünnten Mineralsäuren und verdünnter Essigsäure. Sie lösen sich unter



Fig. 117

Proteinkörner aus dem Milchsafte von *Cecropia peltata* L. Links *a* zweifach, *b* dreifach zusammengesetztes Korn. Vergr. etwa 360.

Rechts *a* Proteinkörner, deren Proteino-(Lemko-)plasten durch Wasserzufluß sich aufblähen und dadurch sichtbar werden. Der dunkle Teil entspricht dem Eiweißkorn, der hellere dem Eiweißbildner. *b* Zerfall der Proteinkörner in Stäbchen bei langsamem Wasserzufluß. Vergr. 700.

Aufquellung in verdünnter Kalilauge, sehr verdünntem Ammoniak oder Kalkwasser, färben sich mit Anilinviolett violett, mit Jodjodkalium gelb und mit Saurefuchsin nach dem Erwärmen rot. Sie geben die Xanthoproteinsäure-, MILLÖNSEHE und RASPALESEHE Reaktion und müssen daher als Proteinkörner angesprochen werden.

*Brosimum microcarpum* Scholl. Auch in dem Milchsafte dieser Pflanze kommen zahllose Proteinkörner vor. Sie sind kreisrund, eiförmig, bikonvex, spindelförmig oder polygonal. Ebenso wie Stärkekörner erscheinen sie einfach oder zwei- bis mehrfach zusammengesetzt, sind entweder homogen — das ist der gewöhnliche Fall — oder sind von Linien durchzogen, die sich oft kreuzen. Die Größe eines einfachen Kornes schwankt zwischen Bruchteilen eines Mikrons bis etwa 13  $\mu$ , die großen zusammengesetzten messen mitunter bis 20  $\mu$ . Nach ihren Eigenschaften und Reaktionen sind sie als Proteinkörner zu bezeichnen.

Die Proteinkörner der Samen entstehen nach WAKKER (11) und WERMINSKI (1) aus Vakuolen. Ursprünglich sind die Aleuronkörner mit Eiweiß gefüllte Vakuolen, in denen beim Austrocknen des reifenden

Samens das Eiweiß fest wird. Die Proteinkörner der beiden Milchsäfte unterscheiden sich von den Aleuronkörnern der Samen unter anderem auch dadurch, daß sie unter Intervention von Leukoplasten (Proteino-plasten) entstehen. Von der plasmatischen Grundlage kann man sich bei *Cecropia* leicht überzeugen, wenn man auf ein frisch aufgefangenes Milchsaftröpfchen Wasser langsam einwirken läßt und mikroskopisch betrachtet. Man kann dann sehen, wie sich das Eiweiß allmählich löst und der Leukoplast schließlich zurückbleibt. Häufig bläht sich der Leukoplast, bevor das Proteinkorn gelöst ist, infolge der Wasseraufnahme auf, so daß das Korn von einem schwach lichtbrechenden Hof umgeben erscheint. Untersucht man den intakten, mit Wasser noch nicht vermischten Milchsaft, so kann man die Leukoplasten, die noch kein Protein gebildet haben oder erst zu bilden beginnen, leicht finden, nicht selten sogar in Teilung. Die Proteinkörner von *Cecropia* erscheinen bei starker Vergrößerung homogen, selten annähernd parallel zu einem Durchmesser gestreift; es sieht so aus, als ob der Proteinkörper eine stäbchenartige Struktur hätte. Bei Behandlung mit Wasser, verdünnter Kalilauge oder verdünntem Ammoniak tritt diese

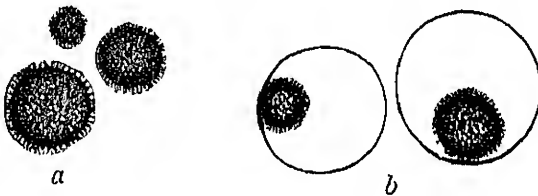


Fig. 118.

Stachelkugeln aus dem Zellinhalt von *Nitella* sp.  
*a* in natürlichem Zustande, *b* nach Behandlung mit Jod-  
 jodkaliumlösung. Vergl. 360.

Struktur besonders scharf hervor (Fig. 117b, rechts). Innerhalb eines Leukoplasten können sich bei *Cecropia* ein oder zwei bis mehrere rundliche, polygonale oder unregel-

mäßige Eiweißkörner ausbilden; auf die letztere Weise entstehen die zusammengesetzten Proteinkörner (MOLISCH 11, 21).

#### 4. Die Stachelkugeln der Characeen.

Blickt man auf den Plasmastrom einer Internodialzelle von *Nitella*, so bemerkt man zahlreiche größere, kugelige Gebilde sich durch die Zelle bewegen. Es sind weißlich-graue bis graubraune Körperchen von kugelig oder etwas elliptischer Form, im Maximum etwa 24  $\mu$  breit, häufig am Rande mit zahlreichen, dichtgedrängten, haarförmigen Fortsätzen versehen, die ihnen eine gewisse Ähnlichkeit mit bewimperten Schwärmsporen verleihen. Man hat ihnen deshalb auch den Namen „Wimperkörperchen“ oder wegen ihres stacheligen Aussehens den Namen „Stachelkugeln“ gegeben. Noch deutlicher kann man diese Gebilde beobachten, wenn man ein *Nitella*-Internodium zerschneidet und den herausstürzenden Saft direkt im Mikroskope betrachtet. Zwischen den zahllosen Chlorophyllkörnern und Zellkernen wird man unschwer auch einige Stachelkugeln finden (Fig. 118). Sie wurden bereits von CORRI (1774), dem Entdecker der Plasmaströmung, gesehen, später von GÖPPERT und COHN (I) bei *Nitella flexilis*, NÄGEL, von OVERTON (I) bei *Nitella syncarpa* und von VOTAVA (I) bei zahlreichen anderen Arten genauer untersucht.

Gegen konzentrierte Säuren sind sie auffallend widerstandsfähig. Sie ändern sich in kalter konzentrierter Schwefel-, konzentrierter Salz-, Salpeter- und Essigsäure fast gar nicht, desgleichen auch nicht in kalter Natronlauge. Mit Jodjodkaliumlösung werden sie braun, mit Zucker und Schwefelsäure intensiv rot, mit 10 proz. Kaliumbichromat braunrot, mit Osmiumsäure hellbraun und mit Eisenchlorid nehmen sie „einen schwachen, nicht sehr charakteristischen, neutraltintenartigen Ton“ an (Overton 1, 5). Werden sie mit Ferrocyankaliumessigsäure fixiert und nach dem Auswaschen mit Eisenchlorid behandelt, so färben sie sich schön blau. Boraxkarmin färbt sie nach Fixierung mit alkoholischer Sublimatlösung noch intensiver als die Zellkerne, ähnliches leistet wässrige Fuchsinlösung. Aus diesen und einigen anderen Beobachtungen schließt Overton, daß die Stachelkugeln aus einer Eiweiß-gerbstoffverbindung bestehen.

Die Befunde Overtons sind von Votava (1) überprüft worden, jedoch mit anderen Ergebnissen: Nach Votava besitzen die Stachelkugeln keinen kristallinen Bau. Sie zeigen keine große Resistenz gegenüber Schwefelsäure und geben die Eiweiß- aber nicht die Gerbstoffreaktionen.

Neben den Stachelkugeln beobachtete Overton auch wasserhelle Blasen, die sich chemisch wie die Stachelkugeln verhalten und von denen die meisten an einer oder an mehreren Stellen eine kugelige Wandverdickung aufweisen. Diese Blasen zeigen zu den Stachelkugeln alle Übergänge und sind nach Overton im wesentlichen mit den Stachelkugeln identische Gebilde. Die Blasen sind nach Votava (1) die Anfangsstadien der Stachelkugeln.

Overton (1, 9) hat auch zwei Arten der Gattung *Chara*, *Ch. fragilis* und *Ch. hispida*, untersucht, hier typische Stachelkugeln niemals auf finden können, wohl aber die auch bei *Nitella* auftretenden nackten, besonders zahlreich in den eigentlichen Internodialzellen, jedoch auch in den Rindenzenellen der Blätter, Stengel und Eiknospen vorkommenden.

## 5. Die Einschlüsse der Chromatophoren.

Bei allen Pflanzen, mit Ausnahme der Pilze und einiger anderer, findet man lebende plasmatische Gebilde, die Farbstoffe enthalten oder diese wenigstens bilden können. Man nennt sie Chromatophoren. Mit Schimper (1), dem wir eine grundlegende Arbeit über Chromatophoren verdanken, teilt man sie ein in Chloroplasten oder Chlorophyllkörner, in Chromoplasten und in Leukoplasten.

Die Chloroplasten führen immer Chlorophyll, daneben noch andere gelbe Farbstoffe, sie sind gewöhnlich grün, seltener, wie bei nichtgrünen Algen, auch anders gefärbt.

Die Chromoplasten sind nicht grün, sondern gelb bis rot, und die Leukoplasten sind überhaupt farblos, können aber Farbstoffe bilden und so zu Chloro- oder Chromoplasten werden. Eine scharfe Grenze zwischen diesen drei Arten von Chromatophoren existiert also nicht, denn sie können ineinander übergehen, ja ein und derselbe Chromatophor kann sogar zweimal oder mehrmals die Metamorphose vom Leukoplasten zum Chromo- oder Chloroplasten, und zwar in verschiedener Reihenfolge durchmachen. Die Chromatophoren bestehen



der Hauptsache nach aus einer sehr eiweißreichen Grundmasse (Stroma), den Farbstoffen und verschiedenen Einschlüssen. Von den Farbstoffen war bereits auf p. 247ff. ausführlich die Rede, nun sollen die Einschlüsse, soweit sie die Mikrochemie betreffen, behandelt werden: Die Proteinkristalloide, Leukosomen, Pyrenoide, Öltropfen und schließlich die wichtigsten und verbreitetsten, die Stärkekörner nebst einigen anderen Gebilden.

#### a) Die Proteinkristalle.

Von A. MEYER (1), insbesondere aber von SCHIMPER (1, 66), wurden in den Chromatophoren verschiedener Angiospermen Proteinkristalle festgestellt. Sie liegen entweder im Stroma oder ragen daraus hervor oder haften ihm von Anfang an äußerlich an. Sie sind isodiametrisch, tafelförmig, nadelförmig oder prismatisch. Im letzteren Falle sind sie schwach doppelbrechend. Ihr Verhalten ist nicht ganz übereinstimmend. Sie quellen, mit Ausnahme der von *Canna*, stark auf, werden durch absoluten Alkohol gehärtet und zeigen die Eigenschaften und Reaktionen von Eiweißkörpern. Zu ihrem Nachweis können mit Vorteil die auf p. 314ff. angegebenen Färbungsmethoden angewendet werden. Die Proteinkristalle wurden in allen drei Arten von Chromatophoren gefunden, doch nicht gerade häufig (Fig. 119). Eine gewöhnliche Ei-

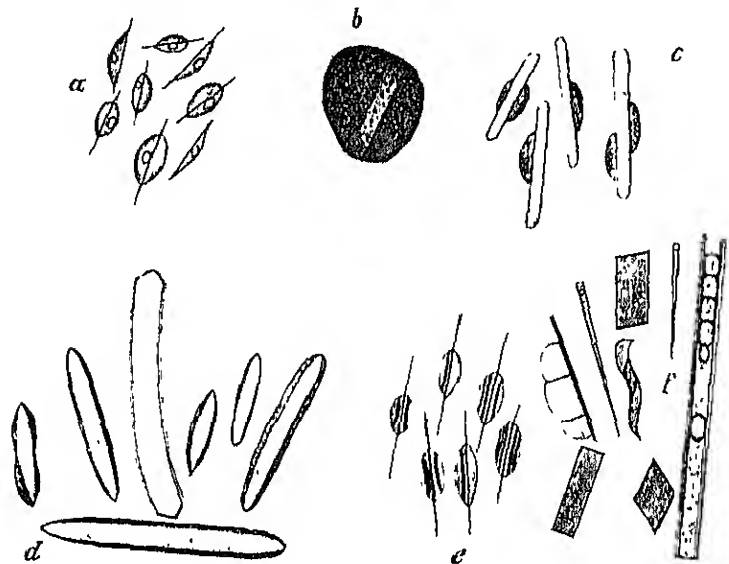


Fig. 119.

a Leukoplasten mit Kristallnadeln aus dem Parenchym eines jungen Niederblattes von *Canna* Warszewiczii.

b Chloroplast mit Proteinkristall aus der Rinde der Knolle von *Phajus grandifolius*.

c Dasselbe aus der Außerminde.

d Chloroplasten mit großen Proteinkristallen aus der Epidermis eines alten Stengels von *Cerinthe glabra*.

e Chromoplasten mit Protein- und Farbstoffkristallen aus dem oberen Teile des Stengels von *Neottia nida avis*.

f Chromoplasten mit orangegelben und roten Farbstoff (Carotin-)kristallen aus der Wurzel von *Daucus Carota*. Nach A. F. W. SCHIMPER (1, 242).

scheinung sind sie bei Orchideen in verschiedenen Organen und in der Epidermis der Boragineen.

#### b) Die Leukosomen.

In den Leukoplasten gewisser *Tradescantia*-Arten, *Tr. discolor*, *Tr. albiflora*, ferner bei *Zebrina pendula*, *Spironema fragrans* und bei *Paphiopedilum barbatum* fand ZIMMERMANN (II, 22 und 154) kugelige Einschlüsse einer eiweißartigen Substanz, die er Leukosomen nannte (Fig. 120). Sie liegen in den Leukoplasten der Blattepidermis zu ein, zwei oder mehreren beisammen. Ihrem chemischen Verhalten nach bestehen sie, wie die gesamte übrige Masse der Leukoplasten aus proteinartiger Substanz und unterscheiden sich dadurch wesentlich von den in Leukoplasten vorkommenden Stärkekörnern. Sie fließen im Jod-

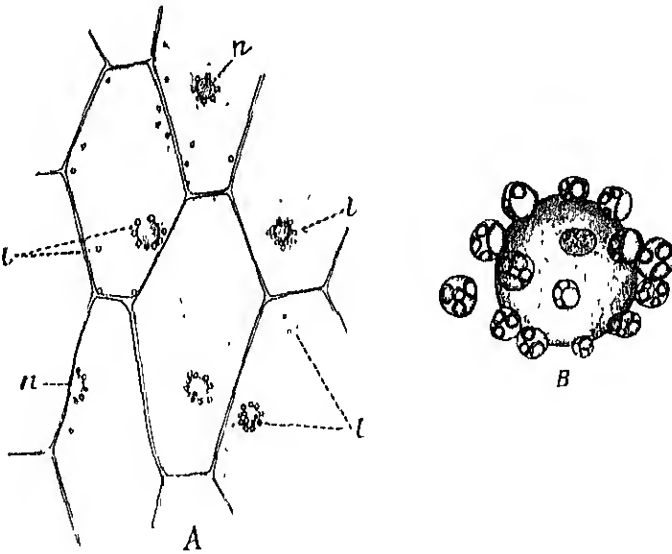


Fig. 120

*Dichorisandra discolor*. A Epidermiszellen mit Kern *n* und Leukoplasten *L*. Vergr. 180. B ein Kern mit Leukoplasten stark vergrößert (1140). In den Leukoplasten kugelige Leukosomen.

wasser zu homogenen Kugeln zusammen und färben sich dann gelb bis braun. Sie geben die Xanthoproteinsäure- und MILTONSche Reaktion und lassen sich mit Säurefuchsin und anderen Farbstoffen leicht färben. Stofflich stehen sie den Proteinkristallen anderer Chromatophoren nahe, im Grunde genommen sind sie ja nichts anderes als amorphes Protein. ZIMMERMANN hat noch eine sehr große Anzahl anderer Pflanzen auf Leukosomen geprüft, jedoch mit negativem Resultat, ihre Verbreitung scheint daher eine sehr beschränkte zu sein.

#### c) Die Pyrenoide.

Bei zahlreichen Algen und bei *Anthoceros* kommen im Chromatophor ein oder mehrere, meist kugelige Körper vor, die der Grundmasse

des Chromatophors so eingelagert sind, wie etwa der Nukleolus der Grundmasse des Zellkerns. Sie stellen gleichsam die Kerne des Chromatophors dar und wurden daher von SCHMIDT (1, 37) Pyrenoide ( $\pi\rho\eta\eta\rho$ -Kern) genannt. Unter den Algen finden sich Pyrenoide bei zahlreichen marinen und einigen das Süßwasser bewohnenden Diatomeen, bei allen Bangiaceen und Nematien und den meisten grünen Algen (inklusive der Euglenen). Außerdem besitzen die Chromatophoren des Lebermooses *Anthoceros* gleichfalls Pyrenoide<sup>1)</sup>. Zwischen den Pyrenoiden und der Bildung der Stärke resp. der Körner der Euglenen und Florideen be-

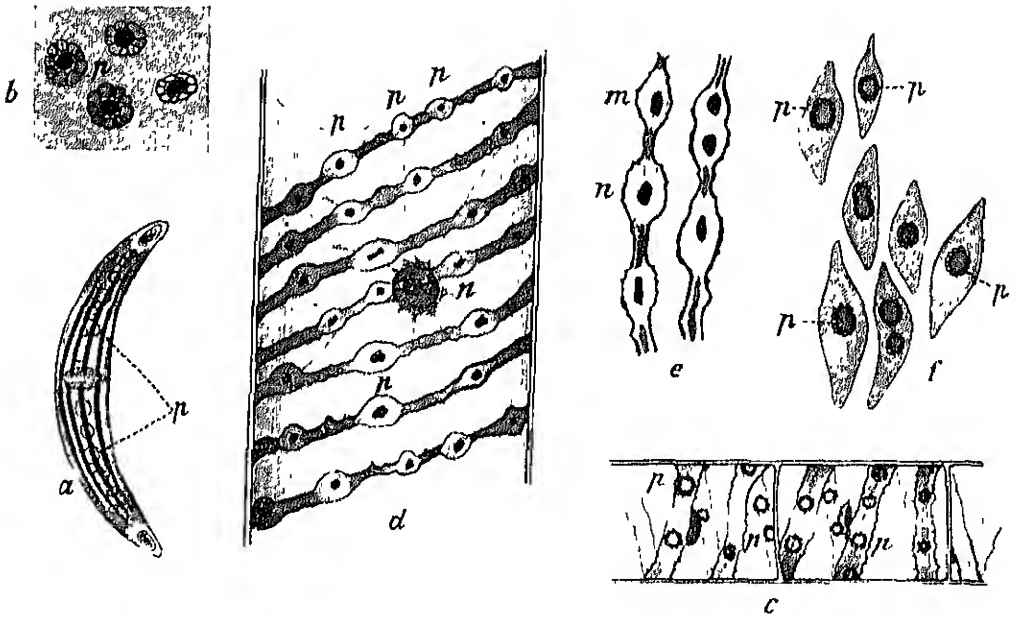


Fig. 121.

Pyrenoide  $p$  in Chromatophoren von Algen.

- a *Closterium moniliforme* mit Pyrenoiden. Vergr. etwa 50.  
 b Pyrenoide mit Stärkeherden aus *Closterium Ehrenbergii*. Vergr. 350  
 c *Spirogyra* sp. mit Pyrenoiden und Stärkeherden im Chlorophyllband  
 d *Spirogyra crassa* mit Pyrenoiden im Chlorophyllband.  $n$  der Zellkern.  
 Vergr. 280  
 e Ein Teil des Chlorophyllbandes von d, 350mal vergrößert, bei  $m$  und  $n$  strahlige Fäden vom Zentrum des Pyrenoids zu seiner Peripherie.  
 f *Brizopsis plumosa*. Chlorophyllkörner mit Pyrenoiden  $p$  und Stärkeherden. Vergr. 280.

steht eine konstante Beziehung. Wenn Stärkekörner entstehen, treten sie immer zuerst und hauptsächlich um die Pyrenoide auf, so zwar, daß die Stärkekörner wie eine hohlkugelige Hülle das Pyrenoid umgeben. Diese Hüllen waren seit langem als „Stärkeherde“ oder „Stärkekerne“ bekannt (Fig. 121 b, c und f). Das Pyrenoid besteht also zumeist aus einem proteinartigen Kern und einer Stärkehülle. Fehlt die Hülle, was

1) Nach HANSGRUB (1) sollen angeblich auch in Moosprotonemen Pyrenoide vorkommen, doch bedarf diese Angabe einer Revision.

entweder bei ungünstigen Kulturbedingungen oder aus inneren Ursachen der Fall sein kann, so erscheint das Pyrenoid nackt (Fig. 121 *d* und *e*). Nach den Untersuchungen von MEYER (I, 11) und SCHIMPER (II, 74) besitzt der Kern, also der wesentliche Bestandteil des Pyrenoids, häufig Kristallnatur. Bei *Bryopsis* sind die Pyrenoide sechseckig, bei einer marinen *Cladophora* gleichzeitig tafelförmig; sechseckig wurden sie, wenn auch nicht immer sehr regelmäßig, auch bei *Mougeotia*, *Ulothrix*, *Cladophora glomerata*, *Spirogyra majuscula* und *Ulva bullosa* gefunden (SCHIMPER II, 81). Nach ZIMMERMANN (IV, 201) kommen aber bei *Zygnema* und nach KLEBAHN (I, 426) bei *Cosmarium* auch Pyrenoide mit nicht kristallisiertem Kern vor, was ja auch begreiflich erscheint, da ja die gleiche oder eine ähnliche Substanz bald im kristallisierten, bald im amorphen Zustand auftreten kann.

Ich darf nicht verschweigen, daß ich mich von der Kristallnatur der Pyrenoide nicht überzeugen konnte und daß ich so regelmäßige Kristallformen, wie sie z. B. SCHIMPER für *Bryopsis* gezeichnet hat, niemals gesehen habe. Es ist auch nicht leicht einzusehen, wie ein kristallisiertes „Pyrenoid die Bildung von Stärke“, d. h. des Stärkeherdes, vermitteln sollte. Aufgefallen sind mir bei den Pyrenoiden von *Spirogyra crassa* an fixierten und gefärbten Präparaten eigenartige strahlige Fäden, die vom Zentrum des Pyrenoids zu seiner Peripherie gehen (Fig. 121 *c* bei *m* und *n*). Das Pyrenoid erscheint in der Mitte der Strahlungstiger aufgehängt, etwa wie eine Spinne im Netz.

Die Pyrenoide geben die Eiweißreaktionen, werden durch Alkohol und Pikrinsäure fixiert, durch Gentianaviolett, Hamatoxylin, Karmin und andere Farbstoffe mehr oder weniger gefärbt. Besondere Tinktionsmethoden hat ZIMMERMANN (IV, 201) ausgearbeitet, sie leisten besonders dann gute Dienste zur Erkennung der Pyrenoide, wenn sie durch stark entwickelte Stärkehüllen maskiert erscheinen.

Bei *Dicranochaete reniformis*, einer in *Sphagnum*-blättern lebenden Protococcacee, beobachtete HERONIMUS (I) nackte Pyrenoide, d. h. solche, denen eine Stärkehülle stets abgeht. Die Stärke entsteht hier an beliebigen Stellen des Chromatophors. Das Pyrenoid besteht hier aus einer proteinartigen Hülle und aus einem Eiweißkristall, wenigstens sprechen die meisten von HERONIMUS angeführten Reaktionen dafür, ausgenommen einige Angaben, wie z. B. die, daß sich die Pyrenoide in kochendem Wasser lösen.

Die Pyrenoide spielen zweifellos eine sehr wichtige Rolle, denn sie sind bei der Bildung der Stärke sicherlich irgendwie beteiligt. Ihre Kristalloide unterscheiden sich von den Kristalloiden der Zellkerne, des Plasmas und des Akenons dadurch, daß die letzteren eine Beziehung zur Stärkebildung nie erkennen lassen.

Die Angaben darüber, wie die Pyrenoide entstehen, ob durch Neubildung oder durch Teilung, lauten verschieden. SCHIMPER nimmt im Gegensatz zu SCHMITZ nur Neubildung an, CHMILEWSKI (I) will bei *Zygnema* nur Teilung beobachtet haben, OVERTON (I, 148) sah bei *Hydrodictyon* Neubildung, KLEBS (I) beobachtete Auflösung der Pyrenoide bei derselben Alge und STRASBURGER (I) bei *Cladophora* (ZIMMERMANN V, 93).

## d) Die Öltröpfchen.

Durch die Untersuchungen von v. MOHL (I), BÖHM (I), NÄGELI (I), BRIOSI (I), HOLLE (I), GODLEWSKI (I), BORODIN (I), SCHMITZ (I), MEYER (I), KLEBS (I), PRINGSHEIM (I) und insbesondere von SCHIMPER (I, 173) wurde auf das Vorkommen von öltartigen Einschlüssen in Chromatophoren hingewiesen. Es seien nur einige Beispiele erwähnt. NÄGELI entdeckte in den Chlorophyllkörnern des Rindenparenchyms von *Rhipsalis funalis* und *Cereus variabilis* öltartige Einschlüsse. BRIOSI (I, 532) fand die Chlorophyllkörner älterer Blätter von *Strelitzia*- und *Musa*-Arten stets stärkefrei, dagegen immer mit einer öltartigen Substanz versehen, die im lebenden Korn unsichtbar war, sich aber beim Aufquellen in Form von Tröpfchen ausschied (Fig. 122). A. MEYER (I, 14) fand bei verschiedenen Monocotyledonen (Musaceen, Bromeliaceen, Dracaena, Agave) öltartige Einschlüsse, betont jedoch, daß sie sich durch ihre

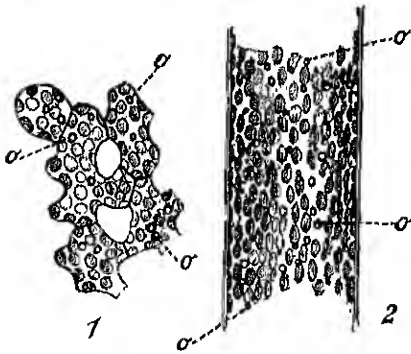


Fig. 122.

1. Ölkugeln o zwischen den Chlorophyllkörnern der Mesophyllzellen von *Musa* sp.
2. Ölkugeln o auf und zwischen den Chlorophyllkörnern von *Vaucheria terrestis*. Vergr. 350.

Reaktionen sowohl von den fetten als auch von den ätherischen Ölen unterscheiden. Nach SCHMITZ (I, 160) befinden sich die Öltröpfchen bei den Algen nicht im Chlorophyllkorn, sondern auf der Peripherie, sind jedoch in ihrer Entstehung abhängig vom Chromatophor. Während man bisher das Auftreten der Öltröpfchen in den Chromatophoren für etwas Vereinzelteres hielt, zeigte SCHIMPER, daß es sich um eine nahezu allgemeine Erscheinung handle. Nur bei Farnen und Moosen konnte er sie nicht beobachten.

Die Öltröpfchen liegen entweder im Chromatophor, oder sie sitzen dem Stroma auf und

ragen vollständig frei in das Plasma hinein. Am leichtesten sind sie in langlebigen Blättern, z. B. in denjenigen von *Mesembryanthemum*, *Agave*, *Strelitzia*, *Cordyline vivipara*, Orchideen, in Stengelorganen der Kakteen und den Scheinknollen der Orchideen zu beobachten.

Jugendliche, kräftig vegetierende Organe bilden nur selten Öltröpfchen, z. B. *Vaucheria*. Hier sitzen sie den Chromatophoren auf (Fig. 122, II). In abfallenden Blättern hingegen, treten sie kurz vor dem Gelbwerden reichlich auf. Ebenso bei ungünstigen Kulturbedingungen [A. MEYER, WAKKER (I, 474)].

Wenn auch die Reaktionen der Öltröpfchen nicht immer gleich sind, so gehören sie jedenfalls chemisch nahe zusammen. Sie sind alle unlöslich in Wasser, Essigsäure, löslich in Alkohol und Äther und färben sich mit Überosmiumsäure braun. Sie stimmen, wie MEYER (I, 28) hervorgehoben hat, weder mit ätherischem Öl noch mit fettem ganz überein, man kann sie aber, bevor sie chemisch näher charakterisiert sind, vorläufig mit SCHIMPER (I, 180) aus prak-

tischen Gründen als Öltröpfchen bezeichnen, ohne damit aber jetzt schon sagen zu wollen, daß sie mit fetten Ölen identisch sind. Wahrscheinlich aber stehen sie ihnen sehr nahe. Auch sei bemerkt, daß sie nicht immer dieselben Reaktionen geben. So sind sie bei einigen Pflanzen in Chloralhydrat löslich, bei den meisten aber unlöslich, manche nehmen HANSTEIN'SCHES Anilin-Methylviolettgemisch gering auf, andere wieder nicht oder nur in geringen Mengen.

Über die physiologische Bedeutung der Öltröpfchen lauten die Ansichten auch recht verschieden. HOLLE hielt sie für ein Assimilationsprodukt vergleichbar der Stärke, während sie GODLEWSKI als Auswurfstoff betrachtete. Die Beobachtungen SCHMIDERS, denen zufolge die Öltröpfchen erst in alternen Organen deutlich werden oder sich häuten und dann nicht mehr resorbiert werden, sprechen dafür, daß man es in den Öltröpfchen mit einem weit verbreiteten Auswurfstoff zu tun hat. SCHMIDT hält dies auch für *Vaucheria* wahrscheinlich, wo BORODIN in den Öltröpfchen ein Assimilationsprodukt zu erblicken glaubte.

In die verschiedenen, oft widerstreitenden Ansichten über die erwähnten Öltröpfchen haben die Untersuchungen A. MEYERS (VII, 313) Klarheit gebracht.

Seine Ergebnisse lassen sich etwa

folgendermaßen zusammenfassen.

Er teilt die Öltröpfchen in zwei Gruppen, die einen entstehen in den Chlorophyllkörnern und treten aus ihnen heraus (Tropaeolum). Sie bilden das Assimilationssekret. Die anderen stellen das Mesophyllsekret oder kurzgesagt das Mesekret dar (Fig. 123), d. h. Öltröpfchen, „welche sich im Zytoplasma der Mesophyllzellen abgelagert finden, sich in viel Alkohol und Chloroform ganz oder größtenteils lösen, mit Osmiumsäure bräunen, fast ganz oder ganz flüchtig sind, für uns keinen auffallenden Duft und Geschmack haben und in den jungen Blättern noch weniger entwickelt sind als in den älteren“ (*Ilex aquifolium*).

Das „Assimilationssekret“ stellt ein Abfallprodukt dar, das bei der Kohlensäureassimilation entsteht. Es erscheint in den Chloroplasten zuerst in Form undeutlicher Kügelchen (Grana), nimmt aber mit der Dauer der Assimilation derart zu, daß es schließlich in Tropfenform aus den Chlorophyllkörnern antritt. Daher sind die Blätter, die in völliger Dunkelheit erwachsen sind, frei von Assimilationssekret. Dies spricht sehr dafür, daß es sich um einen Auswurfstoff handelt.

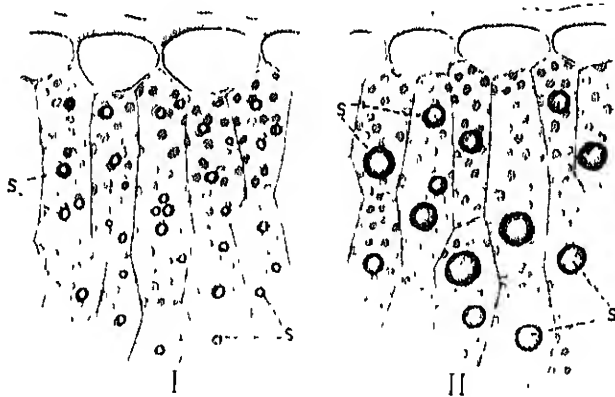
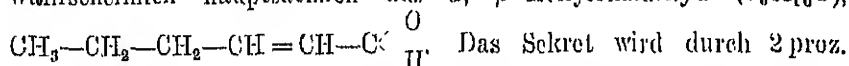


Fig. 123

Mesophyllsekret S. I u. II Stücke der Blattoberseite von *Taxus baccata*. I von einem jungen Blatte, II von einem alten. Das Mesophyllsekret bei II viel reichlicher als bei I. (Vergl. 285.)

Was die chemische Zusammensetzung dieser ziemlich allgemein verbreiteten Sekrettropfen anbelangt, so bestehen sie nach MEYER wahrscheinlich hauptsächlich aus  $\alpha$ ,  $\beta$ -Hexylenaldehyd ( $C_6H_{10}O$ ),



Osmiumsäure gebräunt und schwerer löslich gemacht. In den Chloroplasten tritt es schön hervor, wenn man nach der Einwirkung der Osmiumsäure zu dem Präparat Chloralhydrat mit dem gleichen Volumen Wasser verdünnt (Chloralhydrat 2+5, 1 Vol., verdünnt mit 1 Vol. Wasser) hinzufügt.

Die Tropfen des Assimilationssekretes sind in Wasser unlöslich, lösen sich mehr oder minder langsam in Alkohol, Essigsäure und Äther.

Das Mesophyllsekret ist bei vielen Arten der Angio- und Gymnospermen, besonders bei immergrünen gefunden worden. Einnal ausgeschieden, wird es nicht mehr merklich angegriffen.

Die Mesekrettröpfchen lösen sich, soweit untersucht, in 95proz. Alkohol schwer, leicht in Chloroform, Xylol, Petroläther und Schwefelkohlenstoff. Durch Kalilauge + Ammoniak werden sie nicht kristallinisch und durch ammoniakalische Silberlösung nicht verändert. Aus diesen und anderen Reaktionen, bezüglich welcher man bei A. MEYER (VII, 331) das weitere findet, geht hervor, daß das Mesekret ein Gemisch von wasserunlöslichen Stoffen ist, die sich beim Verdampfen und gegen Lösungsmittel ungleich verhalten, keine Aldehyde und anscheinend auch Phenole nicht in größerer Menge führen. MEYER vermutet, daß das Mesekret hauptsächlich aus Assimilationssekret gebildet und im Protoplasma eingelagert wird, wo es auch in benachbarte Zellen auswandern kann. Beide Sekrete sind wahrscheinlich als Abfallprodukte zu betrachten, die nicht mehr in den Stoffwechsel einbezogen werden.

#### e) Die Stärke.

Zu den verbreitetsten Pflanzenstoffen gehört die Stärke. Nur bei den Pilzen, den Diatomeen, Cyanophyceen, Braunalgen und einigen anderen Pflanzen hat man sie vermißt. Sie kommt in der lebenden Zelle niemals in gelöstem Zustande (vgl. p. 198), sondern immer in fester Form, zumeist in Körnerform vor. Ihre Entstehung ist stets an das Vorhandensein eines Chromatophors geknüpft. Nur in einem Chlorophyllkorn, in einem Chromo- oder Leukoplasten kann Stärke entstehen. Später, wenn das Stärkekorn erwachsen ist, scheidet es allerdings so aus, als ob es frei im Plasma läge.

Vom physiologischen Standpunkte kann man mit WIESNER (I, 561) die Stärke unterscheiden

1. als autochthone Stärke, die bei der Kohlensäureassimilation im Chlorophyllkorn entsteht,

2. als Reservestärke, die in den Speicherorganen (Knollen, Zwiebeln, Rhizomen, Samen, Stämmen usw.) aufgestapelt wird,

3. als transitorische Stärke, die aus den Chlorophyllkörnern zu den Reservebehältern und von diesen zu den wachsenden Teilen in Form von Zucker wandert und auf der Wanderung wieder zu kleinen Stärkekörnern umgewandelt wird (Fig. 124).

Die Gestalt der Stärkekörner wechselt sehr: es gibt kugelige, ellipsoidische, polygonale, scheiben-, stab-, knochenförmige und andere Formen (Fig. 125).

Die Größe schwankt zwischen Bruchteilen eines bis etwa 100  $\mu$  und darüber.

Viele Stärkekörner erscheinen geschichtet, entweder konzentrisch oder exzentrisch. Sie sind entweder einfach oder zusammengesetzt.

Chemie. Die empirische Formel der Stärke ist  $C_6H_{10}O_5$ , ihre Molekulargröße vorläufig nicht bekannt. Wird die Molekularformel mit  $(C_6H_{10}O_5)_n$  bezeichnet, so stellt  $n$  jedenfalls eine Zahl dar, die bedeutend größer als 4 ist. Intakte Stärkekörner lösen sich in kaltem Wasser nicht, beim Erwärmen in Wasser quellen sie auf und werden

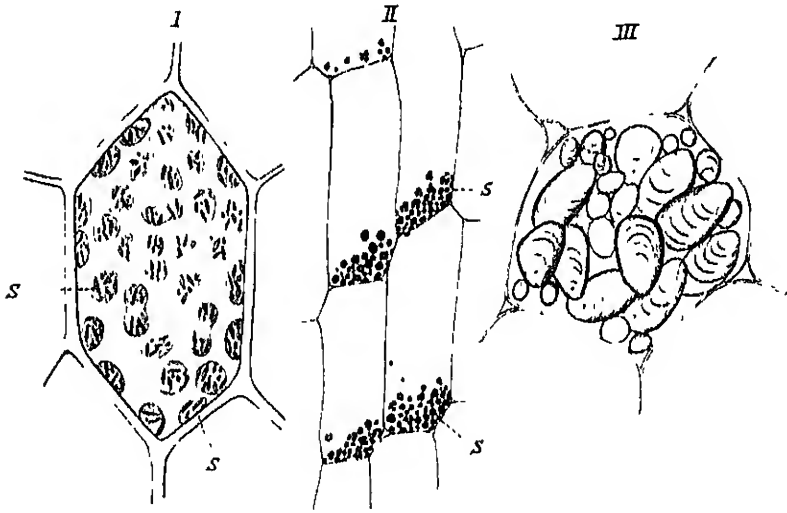


Fig. 124.

I. Zelle eines Moosblattes (*Mnium*), erfüllt von Chlorophyllkörnern. In diesen Körnern und Stäbchen: die autochthonen Stärkekörnerchen *s*. Veigr. 450.

II Tangentialschnitt durch die Stärkescheide des Epikotyls von *Phaseolus multilokus*. An der Basis der Zellen die transitorische Stärke *s*. Veigr. 180.

III. Reservestärke in der Parenchymzelle einer Kartoffelknolle. Veigr. 80

in eine kolloidale Masse, in Kleister, umgewandelt. Die Temperatur, innerhalb welcher sich die Kleisterbildung vollkommen vollzieht, schwankt je nach der Stärkeart zwischen 55–87° C. Eine Aufquellung der Stärke kann auch durch konzentrierte wässrige Lösungen neutraler Salze und durch starke Basen erzielt werden. 40proz. Calciumnitrat-, 30proz. Calciumchloridlösung, 2proz. Kali- oder Natronlauge leisten hierbei gute Dienste.

Nach MEYER (III, 2) bestehen die Stärkekörner aus Amylose und kleinen Mengen von Amylodextrin. Die Amylose tritt in zwei Modifikationen auf, einer bei 100° flüssig werdenden ( $\beta$ -Amylose) und einer anderen, die bei dieser Temperatur mit Wasser nicht flüssig wird ( $\alpha$ -Amylose).



Nach neueren Untersuchungen von MACQUENNE (I) setzt sich die natürliche Stärke aus Amylose und Amylopektin zusammen. MACQUENNES Amylose ist identisch mit MEYERS  $\alpha$ -Amylose und beträgt 60 bis 80 % der Stärke. Sie löst sich ohne Rückstand in Alkalien, gibt nie Kleister, färbt sich mit Jod blau und stellt ein Gemisch dar, dessen Komponenten sich durch ihr Verhalten gegen siedendes oder überhitztes Wasser unterscheiden. Amylopektin ist ein gelatinöser, in Wasser und Alkali unlöslicher Körper, der sich mit Jod nur sehr wenig färbt (ZEMPLÉN I, 115).

BIEDERMANN (I) hat ausgedehnte Untersuchungen über die Einwirkung von menschlichem Speichel hauptsächlich auf Weizenstärke gemacht und kommt

gleichfalls zu dem Schlusse, daß das Stärkekorn der Hauptsache nach aus Amylose und Amylopektin besteht, daß aber neben diesen noch ein dritter Körper an dem Aufbau teilnimmt, der der Zellulose sehr nahe steht, und für den er den Namen Amylozellulose vorschlägt.

Nach den ausführlichen Darlegungen MEYERS (III, 116) faßt man heute allgemein das Stärkekorn als einen Sphärokrystall aus Amylose, eventuell aus Amylose und Amylo-

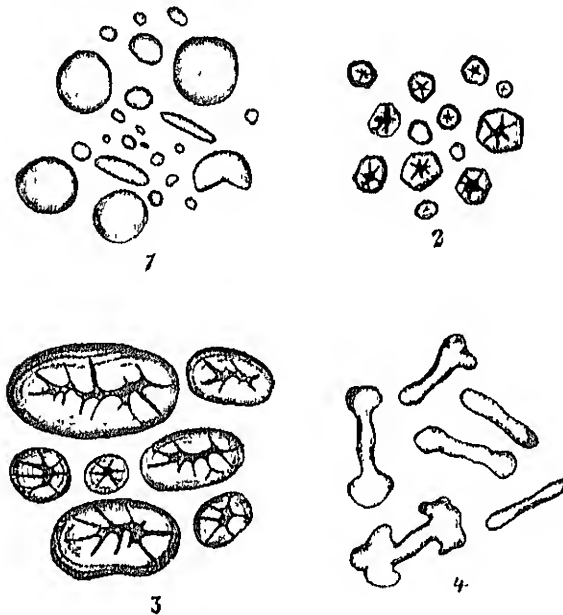


Fig. 125

Stärkearten: 1. *Triticum vulgare*. 2. *Zea Mays*. 3. *Phaseolus multiflorus*. 4. *Euphorbia splendens* (a. d. Milchsatt). Vgl. 350 Vgl. auch Fig. 124.

dextrin, auf. Diese Substanzen bilden trichitische Kristalle, die in radiärer Anordnung den Sphärokrystall aufbauen. Mit diesem kristallinen Bau hängt auch das Verhalten der Stärkekörner im polarisierten Lichte zusammen, denn bei gekrenzten Nikols erscheinen sie hell mit einem dunklen Kreuz, dessen Schnittpunkt durch den Kern des Stärkekorns geht.

Von großer Wichtigkeit ist das Verhalten der Stärke zu Jod. Stärkekörner werden mit Jodwasserstoff enthaltenden Jodlösungen oder Jodjodkaliumlösung schwarzblau, mit verdünnten Lösungen indigoblau. Die entstehende Substanz, die sogenannte Jodstärke, wird bald als eine chemische Verbindung angesehen, bald als das Produkt der Einlagerung von Jod in die Stärkesubstanz mit blauer Farbe oder als Lösung des Jods in der Stärkesubstanz. Beim Erwärmen im Wasser

verschwindet die blaue Farbe, beim Erkalten kehrt sie wieder zurück.

Für den mikrochemischen Nachweis kommen die erwähnten Eigenschaften gegenüber Wasser, Mineralsalzen, Basen, das Aussehen, die Größe, Struktur, Doppelbrechung, Kleisterbildung, insbesondere aber das Verhalten zu Jod in Betracht. Die Jodstärkereaktion gehört zu den wertvollsten, die wir in der botanischen Mikrochemie besitzen. Sie tritt ganz lokal auf und kann noch bei sehr starken Vergrößerungen beobachtet werden. Man bedient sich zum Stärkenachweis zumeist einer wässrigen Jodlösung (Jodwasser), einer alkoholischen Jodlösung (Jodtinktur) oder einer Lösung von Jodjodkalium (vgl. p. 18). Ein Zuviel von Jod ist zu vermeiden, da sich sonst die Stärkekörner oft schwarzblau oder schwarzbraun färben. Eine schon rötlich-blaue Färbung erhält man bei Verwendung verdünnter Lösungen. Das Substrat muß neutral oder schwach sauer sein. Alkalien verhindern die Reaktion, weil das freie Jod sofort gebunden wird, auch manche andere Körper, wie gewisse Phenole, Tannin, arabisches Gummum usw. Gequollene oder verkleisterte Stärke eignet sich ganz besonders für die Reaktion und von dieser Tatsache macht man mit Vorteil Gebrauch, wenn es sich um den Nachweis sehr geringer Stärkemengen, z. B. im Pollen oder im Chlorophyllkorn, handelt. Für solche Zwecke hat sich in ausgezeichneter Weise das von MEYER empfohlene Jodechloralhydrat (vgl. p. 19) bewährt. Dieses Reagens zerstört die übrigen Zellbestandteile, hebt den Schnitt auf, verkleistert die Stärke und macht die geringsten Stärkespuren blau. Die Beobachtung darf nicht zu lange hinausgeschoben werden, weil das Chloralhydrat die Stärke nach längerer Zeit zersetzt.

Das von NOEL (1377) zur Aufhellung und Lösung des Plasmas empfohlene Eau de Javelle kann nach HENRICHI (IV) ebenso wie das Chloralhydrat zum Nachweis kleinster Stärkemengen verwendet werden. Während das Plasma in Javellescher Lauge unter Aufhellung rasch zerstört wird, bleiben die Stärkekörner relativ lange erhalten. Sie verkleistern nach und nach und werden hierdurch für die Jodreaktion gut vorbereitet. Sie färben sich dann auf Jodzusatz intensiv blau. Man hat beim Arbeiten mit der erwähnten Lauge darauf zu achten, daß sie nicht zu lange einwirkt, weil sie sonst die Stärke ganz auflöst.

Als Ersatzmittel für das zum Stärkenachweis verwendete Jodechloralhydrat kann man mit Vorteil nach NARMANN (1) das stark aufhellende Phenol in dem einige Spüßter Jod aufgelöst wurden benutzen.

Die sogenannte SACUSSCHE (1) Jodprobe, die es erlaubt, den Gehalt und die Verteilung der Stärke in einer ganzen Pflanze oder in einem ganzen Blatte makroskopisch zu übersehen, besteht bekanntlich darin, das Blatt im Wasser ganz kurze Zeit zu kochen, durch Alkohol von Chlorophyll zu befreien und dann mit starker alkoholischer Jodtinktur zu behandeln. Diese Methode hat SCHMPPER (III, 739) modifiziert, um sie auch mikrochemisch auszuwerten. Er legt zu diesem Zwecke die zu untersuchenden, durch Alkohol des Chlorophylls beraubten Blätter in eine Lösung von Jodechloralhydrat (8 T. Chloral auf 5 T. Wasser) für 12 Stunden ein. Hierdurch werden die Blätter, wenn sie nicht zu

dick waren, so durchsichtig, daß sie selbst bei starken Vergrößerungen unterm Mikroskop die Stärkekörner durch ihre blaue Farbe verraten.

Außer den gewöhnlichen Stärkekörnern, die mit Jod blau werden, gibt es — allerdings relativ selten — auch solche, die sich mit Jod rot oder rotviolett färben. Die genauesten Mitteilungen darüber verdanken wir MEYER (III, 79; IV, 338). Derartige abnorme Stärkekörner, die kurz als „rote“ Stärkekörner bezeichnet werden sollen, sind bisher gefunden worden bei:

Iridaceen, *Iris germanica*.

Gramineen, *Oryza sativa* var. *glutinosa*; *Panicum miliaceum* var. *canditum glutinosum*; *Sorghum vulgare glutinosum*.

Orchidaceen, *Goodyera repens*, *discolor*; *Malaxis monophyllos*, *Epipogium Gmelini*; *Serapis Lingua*; *Phalaenopsis grandiflora*, *Schilleriana*; *Stanhopea oculata* (PORSCH).

Papaveraceen, *Chelidonium majus*.

Aceraceen, *Acer Pseudoplatanus*.

Ericaceen, *Monotropa Hypopitys*.

Gentianeen, *Gentiana lutea*; *Swertia perennis* (MEYER IV, 342), *Cotylanthra* BL. (FIGDOR I).

Die in Wasser liegenden Stärkekörnchen dieser Pflanzen, z. B. die von *Sorghum*, färben sich mit Jod zunächst schwach violett, dann stärker rotviolett und schließlich intensiv rotbraun, entweder durchgehend oder mit Ausnahme des Zentrums, das sich violett oder blau färbt. SHIMOYAMA (I) und MEYER führen dieses abweichende Verhalten der roten Stärkekörner darauf zurück, daß sie neben Amylose noch Dextrin und Amylodextrin enthalten, das für sich mit Jod eine rotbraune Färbung gibt. FIGDOR meint, daß zwischen dem Auftreten der jodrötenden Stärke und dem Saprophytismus Beziehungen bestehen könnten.

### 6. Die Florideenstärke.

In den meisten Rotalgen findet man Körner, die man, weil sie mit Jod häufig eine der Stärke ähnliche Reaktion geben, als Florideenstärke bezeichnet hat. Sie wurden schon in älterer Zeit von ROSANOFF (I), VAN TIEGHEM (I), BELZUNG (I), HANSEN (I) und in neuerer Zeit von BRUNS (I) und KOLKWITZ (I) untersucht. Die Größe schwankt. Die kleineren messen oft nur 0,5, die größeren zwischen 3—6  $\mu$ .

Die Gestalt der Körner ist bei verschiedenen Rotalgen nicht gleich, zumeist rund, abgerundet kegelförmig mit flacher Vertiefung oder umgestülpter Basis, oder flach scheibenförmig (fig. 126). Beim Rollen der Körner ist die Abplattung und die Vertiefung gut zu sehen.

Eine Schichtung ist nicht zu beobachten; manchmal ist ein Mittelpunkt oder ein Riß wahrzunehmen wie bei echter Stärke. In polarisiertem Lichte zeigen sie ein dunkles Kreuz.

Auf 75° C erhitzt oder auf Zusatz von Kalilauge oder Salzsäure quellen sie stark auf.

Verhalten zu Jod. Die im Wasser befindlichen Körner färben sich, wenn man einige Jodkristalle zulegt, weinrot, violett und schließlich rotbraun. Unterwirft man die Körner in aufgequollenem Zustande der Jodreaktion, so neigt der Farbenton mehr ins Violettrote und Blaue, wie man sich bei Behandlung der Körner mit Jodelehydrat überzeugen kann (KOLKWITZ I, 36). Ich habe zu diesem Zwecke

auch die SACCHSsche Jodprobe mit Vorteil verwendet, man kann dann an dem violetten Farbenton die Verteilung der Stärke im ganzen Thallus mikroskopisch erkennen. — Charakteristisch ist das Verhalten der Florideenstärkekörner gegen Chlorzinkjod. Sie färben sich darin gelb, braun, weinrot bis violett, quellen bedeutend auf, stulpen sich scheinbar um und nehmen eine unregelmäßige Form an (Fig. 126).

Da die Florideenstärke die rein blaue Farbe mit Jod gewöhnlich vermissen und in ihrem Verhalten zu Jod und auch sonst eine gewisse Ähnlichkeit mit den sogenannten „roten“ Stärkekörnern gewisser Phanerogamen erkennen läßt, glaubt BRUNS (I, 177), daß die Florideenstärke mit den roten Stärkekörnern so ziemlich übereinstimmen dürfte. KOLKWTZ hingegen meint, weil auch bei der Phanerogamenstärke mit Jod verschiedene Farbennuancen zum Vorschein kommen, die denen der Florideenstärke gleichen, daß diese sich von der typischen Stärke nicht unterscheide, und daß

es am besten wäre, den Namen Florideenstärke ganz zu vermeiden, da sie nicht eine besondere Bezeichnung verdiene. Nach KOLKWTZ spielt die Florideenstärke zweifellos dieselbe Rolle wie die Stärke bei anderen Pflanzen. Ob sie aber auch chemisch identisch mit der Stärke der anderen Pflanzen ist, wage ich, bevor die mikrochemischen Untersuchungen nicht auch durch makrochemische ergänzt sind, vorläufig nicht zu entscheiden. Jedenfalls steht die Florideenstärke der typischen Stärke sehr nahe. Dieser Meinung ist auch KYLIN (I), er hält aber die Florideenstärke für eine besondere Modifikation der Stärke.

**Entstehung.** Im Gegensatz zu den gewöhnlichen Stärkekörnern entstehen die der Florideen nicht im Innern der Chromatophoren. Nach den Untersuchungen von SCHMITZ (I, 152) sollen sie sich aber unter dem direkten Einfluß und unter der Mitwirkung der Chromatophoren, diesen häufig anliegend, entwickeln. Dieselbe Ansicht haben HENCKEL (I) und KYLIN (I, 190). In scharfen Gegensatz hierzu stellt sich SCHIMPER (I, 199), indem er behauptet, die Florideenstärkekörner seien nicht Produkte der Chromatophoren, sondern des Cytoplasmas, und eine konstante Abhängigkeit der Bildung dieser Körner von den Chromatophoren sei nicht vorhanden. Der Gegenstand erfordert neue Untersuchungen (OLTMANN I, 149).

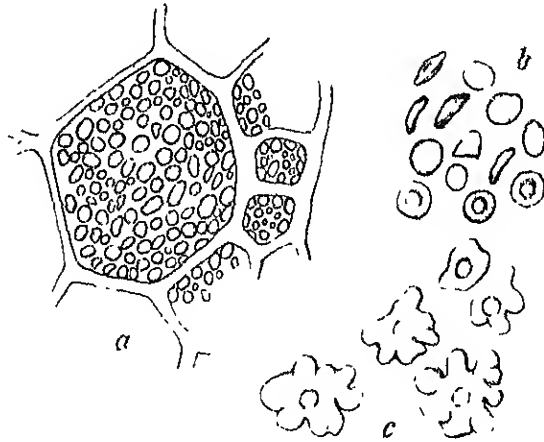


Fig. 126

## Florideenstärke

- a Gewebestück aus *Vidua volubilis*. Die Zellen mit Stärke erfüllt. Vergr. 250.  
 b Einzelne Stärkekörner starker vergrößert. Vergr. 350.  
 c Einzelne Stärkekörner nach Behandlung mit Chlorzinkjod. Vergr. 350.

## 7. Das Paramylum.

Bei den Euglenen und verwandten Flagellaten treten anstatt der Stärkekörner äußerlich ähnliche, in wesentlichen Punkten aber abweichende Körner, Paramylumkörner genannt, auf. Makrochemisch

wurden sie zuerst von GORTLEB (1), mikrochemisch-biologisch hauptsächlich von SCHMITZ (I, 155) und KLEBS (III, 269) untersucht.

Eigenschaften. Die Paramylumkörner stellen ein Kohlehydrat  $(C_6H_{10}O_5)_n$  dar. Ihre Größe und Gestalt wechselt. Von der kreisrunden bis zur schmalen zylindrischen Form finden sich allerlei Übergänge. Sie sind meist abgeflacht, bisweilen dünn scheibenförmig. Auch ring-, stab-, knie-, uhrglas- und sternförmige Formen finden sich bei gewissen Arten vor.

Paramylum ist sehr widerstandsfähig. Salzsäure und organische Säuren lassen es anscheinend unverändert, Salpetersäure und konzentrierte Chromsäure greifen es nur schwer an. Es löst sich leicht in 6proz. Kalilauge und konzentrierter Schwefelsäure. 5proz. Kalilauge läßt die Körner unverändert. 6proz. bringt sie zur raschen Quellung und Auflösung. In starker Kalilauge löst es sich sofort, langsamer in konzentrierter Schwefelsäure.

Durch Jod und Chlorzinkjod wird es nicht gefärbt, desgleichen nicht durch organische Farbstoffe.

Die Körner zeigen, und dies tritt besonders bei der Quellung hervor, einen weniger dichten zentralen Teil und, wie KLEBS (III, 271) im Gegensatz zu SCHMITZ nachweisen konnte, eine konzentrische Schichtung. Die großen, scheibenförmigen oder glattzylindrischen Formen verraten die Schichtung direkt, und zwar sowohl auf der Fläche als auch im Profil (Fig. 127).

Entstehung. Die Paramylumkörner entstehen im Gegensatz zu den Stärkekörnern nicht in direkter Abhängigkeit der Chlorophyllkörper bzw. Leukoplasten, sondern im Cytoplasma. Sie sitzen dem Chromatophor oft auf und werden dann ins Plasma geführt. Bei *Euglena viridis* liegen sie dem sternförmigen Chromatophor in der Nähe des

Pyrenoids häufig auf, wodurch Gestalten entstehen, die den Stärkeherden anderer Algen ähneln; sie werden als Pseudo-Paramylumherde bezeichnet. Später erscheinen die Körner auch längs der Zipfel des Chloro-

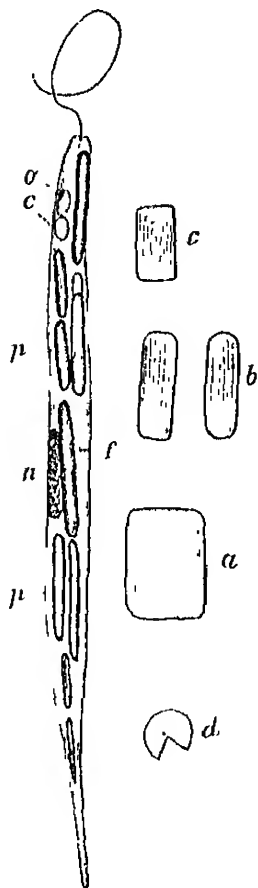


Fig. 127.

Paramylum *p* in *Euglena acus*. *n* Kern, *c* Hauptvakuole, *v* Augenfleck. Vergr. 400. Rechts von der *Euglena* isolierte Paramylumkörner (*a, b, c, d*) v. *Euglena Ehrenbergii*. *a, c* Vorderansicht, *v* Seitenansicht. *d* scheibenförmiges Korn, durch Druck eingeknickt. Vergr. 800. Nach KLEBS.

phyllträgers reichlich, niemals aber liegen sie im Chromatophor, sondern stets außerhalb. Funktionell stimmt das Paramylum mit der Stärke wohl überein. Wenn sich auch der Beweis hierfür nicht so glatt wie bei der Stärke erbringen läßt, so ist doch erwiesen, daß das Paramylum in Abhängigkeit von der Kohlensäureassimilation entsteht, daß es sich bei Belichtung vermehrt und beim Verdunkeln teilweise auflöst.

### 8. Die Fukosanblasen.

In den Zellen der Rhodophyceen wurden seit langem stark lichtbrechende, körnchenähnliche Gebilde bemerkt, über die im Laufe der Zeit ganz verschiedene Ansichten geäußert worden sind. So treten nach SCHMITZ (I, 154) in den Zellen der Phaeophyceen, ähnlich wie bei den Florideen, an der Oberfläche der Chromatophoren glänzende Körnchen auf, die unter dem Einfluß der Chromatophoren entstehen und dann in das Plasma geführt werden. Er bezeichnete sie als „Phaeophyceenstärke“, obwohl sie mit Jod gar nicht gefärbt werden. Außerdem unterschied er mattglänzende hyaline Tropfen im Plasma, die im Gegensatz zur

Phaeophyceenstärke beim Absterben der Zelle im süßen Wasser leicht verquellen, sich in Alkohol lösen und in Pikrinsäure vollständig verschwinden.

BERTHOOLD (I, 56) hält SCHMITZ' Phaeophyceenstärke für eine eiweißartige Substanz

und die mattglänzenden hyalinen Tröpfchen für Gerbsäurebehälter. KUCKUCK (I) hält die Phaeophyceenstärke für Pyrenoide, HANSEN (I, 276) für Fett, und CRATO (I—II) nennt sie „Physoden“ und hält sie für Bläschen, die Phloroglucin oder ein Derivat davon enthalten, da sie sich mit Vanillin-Salzsäure rot färben. BRUNS (I, 166) schließt sich dieser Ansicht an, glaubt aber, daß sie noch Fett enthalten. Demgegenüber aber stehen wieder die Untersuchungen von HANSTEIN (I, II), der die Körnchen insgesamt als Fucosankörner be-

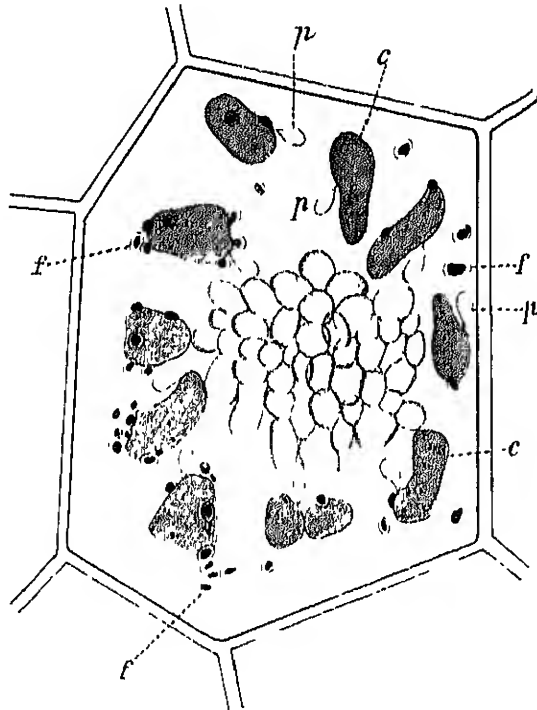


Fig. 128

*Asperococcus bulbosus*. Eine Zelle aus dem Thallas mit 0,1% Osmiumsäure fixiert und mit Methylblau gefärbt. Fukosanblasen *f*, die sogenannten Pyrenoide *p*, die Chromatophoren *c*, in der Mitte ein Haufen zusammengefloßener Fukosanblasen. Vergr. 2000. Nach KUTZ (II).

zeichnet, die aus Fucosan, einem besonderen Kohlehydrat bestehen sollen. In jüngster Zeit hat KYLIN (II) die Frage nach den Inhaltsstoffen der Fucoiden untersucht, und er glaubt drei verschiedene Gebilde unterscheiden zu können: 1. Pyrenoid, 2. Fucosanblasen und 3. Fetttropfen (Fig. 128).

1. Pyrenoid. In der Mitte jeder Assimilationszelle von *Asperococcus* findet man eine traubenförmige Ansammlung stark lichtbrechender Körperchen, die Fucosanblasen. Daneben finden sich, an den Chromatophoren mit kurzem Stiel befestigt, die Pyrenoid. Diese werden durch Osmiumsäure nicht geschwärzt, von Methylenblau nicht gebläut, von Säuren, Alkohol nicht gesprengt, von Jod im Meerwasser nicht zerstört, während bei den Fucosanblasen in allen diesen Fällen das Gegenteil zutrifft. In Übereinstimmung mit BERTHOUD glaubt KYLIN, daß die Pyrenoid aus Eiweiß bestehen. Da sie aber die MILLONsche Reaktion nicht geben und auch sonst keine genaueren Belege für ihre Eiweißnatur vorgebracht werden, so scheint es mir recht zweifelhaft, ob wir es hier tatsächlich mit Pyrenoiden zu tun haben, zumal doch Pyrenoid stets im Chromatophor vorkommen und nicht auf diesem. Der Name erscheint mir daher nicht glücklich gewählt, und auch KYLIN meint, es wäre besser, ihn gegen einen anderen zu vertauschen.

2. Die Fucosanblasen bestehen nach KYLIN aus einer Plasmahaut mit flüssigem, stark lichtbrechendem Inhalt, kommen am reichlichsten in assimilierenden Zellen und den Fortpflanzungskörpern vor und können, wie bereits von anderen Forschern dargetan wurde (HANSTEEN, CRATO usw.), längs der Plasmafäden hin und hergleiten. Die Fucosanblasen werden durch Wasser, Alkohol, Äther, sehr verdünnte Säuren, Natronlauge und Jodjodkaliumlösung gewöhnlich gesprengt, wobei sich ihr Inhalt mit dem Zellinhalt mischt. Sie färben sich mit Vanillinsalzsäure (Vanillin in konzentrierter Salzsäure gelöst) und Piperonal-Schwefelsäure (1 Vol. alkoholische Piperonalösung 1 Vol. konzentrierte Schwefelsäure) rot. Ihr Inhalt wird von Osmiumsäure und ammoniakalischer Silbernitratlösung geschwärzt und nimmt Methylenblau und Methylviolettlösung gierig auf. Die Fucosanblasen enthalten jene Substanz, durch deren Oxydation postmortal das Phyko-phaein entsteht. Die Fucosanblasen stellen nach KYLIN nicht, wie HANSTEEN angibt, Körner dar, sondern Safräume, gefüllt mit einem Stoff, der mit Vanillinsalzsäure die erwähnte Reaktion gibt. Das Fucosan HANSTEENS ist, wie KYLIN (I, II) zu beweisen sucht, kein Kohlehydrat, sondern ein mit den Gerbstoffen verwandter Stoff. Es wäre aber auch denkbar, daß vielleicht in den Fucosanblasen, entsprechend der Ansicht von HANSTEEN, neben dem Gerbstoff doch auch ein Kohlehydrat vorhanden ist, dessen Nachweis aber vorläufig lokal nicht möglich ist.

3. Fetttropfen. Da von REINKE (I) und HANSEN (I) angenommen wurde, daß Fett das erste Assimilationsprodukt der Fucoiden sei, erscheint es von Wichtigkeit, daß sich die Fetttropfen nicht in kräftig assimilierenden Zellen, sondern in anderen, z. B. in den Zellen des Speichergewebes bei *Fucus vesiculosus* vorfinden. KYLIN gelangt durch seine Versuche zu der Ansicht, daß weder Fett noch das Fucosan erste Assimilationsprodukte der Fucoiden darstellen, sondern von ihm nachgewiesene Zuckerarten (Dextrose, Lävulose). Außerdem konnte KYLIN

(I, 186) ein dextrinartiges Polysaccharid (Laminarin) aus Fucoiden gewinnen, das durch Kondensation der Dextrose entstanden ist und physiologisch der Stärke höherer Pflanzen entspricht.

Wie aus der Literaturübersicht zu erschen ist, läßt die ganze Frage der Inhaltsstoffe der Fucoiden an Widersprüchen nichts zu wünschen übrig. Ein und derselbe Stoff wird bald als Fett, Eiweiß, Gerbstoff oder als Kohlehydrat bezeichnet, ein Zustand, der so deutlich zeigt, wie sehr unsere Methoden noch der Vervollkommenung bedürfen. Sollte KYLIN recht behalten, so hätten wir in den Fucosanblasen eigentlich Behälter eines gerbstoffartigen Stoffes zu erblicken; dem steht aber eine ältere Angabe KOCUS (I), die sich auf eine makrochemische Untersuchung stützt, entgegen, wonach der Stoff, der die Rotfärbung mit Vanillinsalzsäure gibt, die Eigenschaft eines kolloidalen, mit einem stickstoffhaltigen Atomkomplex verbundenen Polysaccharids besitzt. Für die Gerbstoffnatur spricht auch nicht gerade der Umstand, daß die Fucosanblasen sich mit Eisenchlorid weder blau noch grün, sondern braun färben.

### 9. Das Leukosin.

Mit diesem Namen hat KREBS (II, 395) eine weiße, stark lichtbrechende Substanz bezeichnet, die sich bei Chrysomonadinen vorfindet und die vielleicht die hier fehlenden Paramylum- und Stärkekörner zu vertreten hat. Über seine chemische Natur weiß man so gut wie nichts. Das Leukosin ist in Wasser löslich, verschwindet in den bekannten Fixierungs- und Fällungsmitteln wie Alkohol, Osmiumsäure, Pikrinsäure, Sublimat, saurem chromsauren Kali und Tannin, ebenso auch in Säuren, Alkalien und überhaupt in Mitteln, die ein Absterben der Zelle herbeiführen. Es färbt sich nicht mit Farbstoffen. Das Leukosin tritt entweder in einzelnen Tropfen auf, oder es füllt, wie bei Microglena, den größeren Teil des Körpers aus und erscheint gewöhnlich am Hinterende der Zelle. Ob das Leukosin mit der Assimilation der Chromatophoren in nahe Beziehung steht, laßt sich vorläufig nicht sagen. H. MEYER, der sich mit dem Leukosin bei Chrysomonas beschäftigt hat, fand, daß es sowohl im Lichte wie im Finstern entsteht, und hält es, weil es sich nur in stickstofffreien Kulturen (Traubenzucker, Rohrzucker, Maltose, Kartoffeln) bildet, für ein Kohlehydrat. Ich für meinen Teil mochte mich, bevor wir über das Leukosin mehr mehr wissen, einer bestimmten Äußerung über die chemische Natur dieses Stoffes enthalten.

### 10. Die Zellulosekörner.

WEBER VAN BOSSE (I) beobachtete in den Zellen der parasitisch in der Urtiacee *Pilea* lebenden Alge *Phytophysa Treubii* geschichtete, einfache oder zusammengesetzte Körnerchen und nannte sie Zellulosekörner, weil sie in ihrem Verhalten zu Jodlösungen mit Zellulose übereinstimmen. Sie geben die Zellulosereaktion mit Jod und Schwefelsäure und mit Chlorzinkjod, sind doppelbrechend und zeigen im polarisierten Lichte die gleiche Orientierung der optischen Achsen wie Stärkekörner. Während der Sporenbildung werden die Zellulosekörner größtenteils aufgelöst, auch zeigen sie eine Beziehung zum Auf- und Abbau des



Öls, insofern sich in ölreichen Zellen wenig und in ölarmen Zellen viel Zellulosekörner befinden. Sie scheinen also die Rolle eines Reservestoffes zu spielen.

## 11. Die Zellulinkörner.

Die Schläuche und Oogonien der Saprolegnien enthalten, bald einzeln, bald zu kleineren oder größeren Gruppen vereinigt, Körner, die man nach dem Vorschlage PRINGSHEIMS (II, 288), dem Entdecker

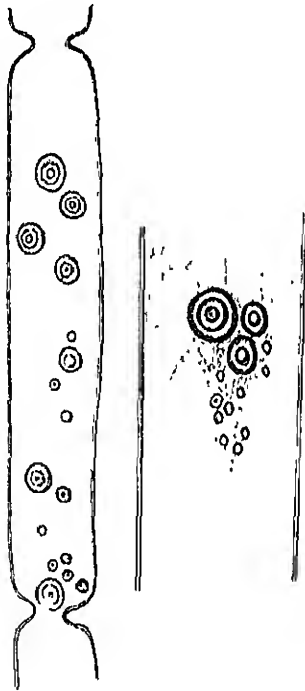


Fig. 129.

*Leptomitia lacteus*. Links ein Hyphenstück mit Zellulinkörnern. Vergr. 180. Daneben rechts ein Teil davon stärker vergrößert, mit großen und kleinen Körnern. Vergr. 350.

dieser Gebilde, als Zellulinkörner bezeichnet. In jungem Zustande stellen sie flache, scheibenförmige oder abgerundet-polyedrische Plättchen aus einer homogenen Substanz von graublauem oder bläulich-weißen Farbenton dar. Die größeren Körner haben Kugelform und zeigen einen Kern und deutliche Schichtung (Fig. 129).

Chemische und physikalische Eigenschaften. Sie lösen sich in den gebräuchlichen Lösungsmitteln der Fette und Harze nicht. Sie färben sich mit Jod überhaupt nicht, auch nicht blau, geben nicht die Eiweißreaktion und speichern keine Farbstoffe. Kautische Alkalien, besonders konzentrierte Kalilauge, lassen sie in der Kälte so ziemlich unverändert, bei langer Einwirkung wird höchstens die Schichtung etwas deutlicher. Bei längerem Kochen in Kalilauge werden sie blasser und unscheinbarer. Auch konzentrierte und verdünnte Salpeter-, Salzsäure und SCHULZE'sche Mischung scheinen eine geringe Einwirkung auszuüben, selbst wenn man einige Zeit erwärmt. In Kupferoxydammoniak sind sie ebenfalls unlöslich. Hingegen lösen sie sich in mäßig konzentrierter Schwefelsäure (1.1) oder in wässrigem, nicht zu verdünntem Chlorzinkjod rasch vollständig auf.

Auf Grund dieser Eigenschaften hält PRINGSHEIM die beschriebenen Körner für eine Modifikation der Zellulose, der er den Namen Zellulin gibt.

SCHAAFSCHMIDT (I) hat in *Vaucheria sessilis*, *V. geminata* und *Chara foetida* Zellhautverdickungen beobachtet, die er als Zellulinkörner bezeichnen zu müssen glaubt, aber die Beschreibung, die er von den Verdickungen entwirft, sprechen schon gegen die Ansicht, daß es sich hier um Zellulinkörner handelt. Eine der hervorstechendsten Eigenschaften der Zellulinkörner ist ihr rasches Verschwinden in Chlorzinkjod und Schwefelsäure. Diese Eigenschaft zeigen aber die Verdickungen von *Vaucheria* und *Chara* nicht; auch nehmen diese relativ leicht Farbstoffe, z. B. Nigrosin, auf, im Gegensatz zu den Zellulinkörnern. Die

von SCHAARSCHMIDT beschriebenen Zellhautverdickungen treten in abnormen Kulturen auf, sind also pathologische Bildungen, während die Zellulinkörner der Saprolegnien ganz normale Inhaltskörper sind. Ich glaube daher, daß die Vau-cheria- und Charazellhautverdickungen den Namen Zellulinkörner nicht verdienen.

## 12. Die Fibrosin- körper.

In den Sporen (Konidien) des auf dem Weißdorn häufigen Mehltaupilzes (*Podosphaera oxycanthae* DC.) und anderer Erysipheen entdeckte ZORF (1) eigentümliche Körperchen, die er für ein Kohlehydrat halt und wegen seiner Verwandtschaft mit FREMYS Fibrose als Fibrosinkörper bezeichnet (Fig. 130)

Sie liegen in reifen Konidien stets im Plasma, und zwar zu 5 bis 15 an der Zahl. Durch einen auf das Deckglas ausgeübten Druck las-

sen sie sich leicht aus der Zelle befreien. Sie haben die Form einer Scheibe, eines Hohlkegels, Hohlkegelstumpfes oder eines Hohlzylinders. Ihr Durchmesser schwankt zwischen 2 bis 8  $\mu$  und ihre Dicke zwischen 0,5 bis 0,7  $\mu$ . Sie zeigen keine Struktur und sind optisch negativ. Die Fibrosin-

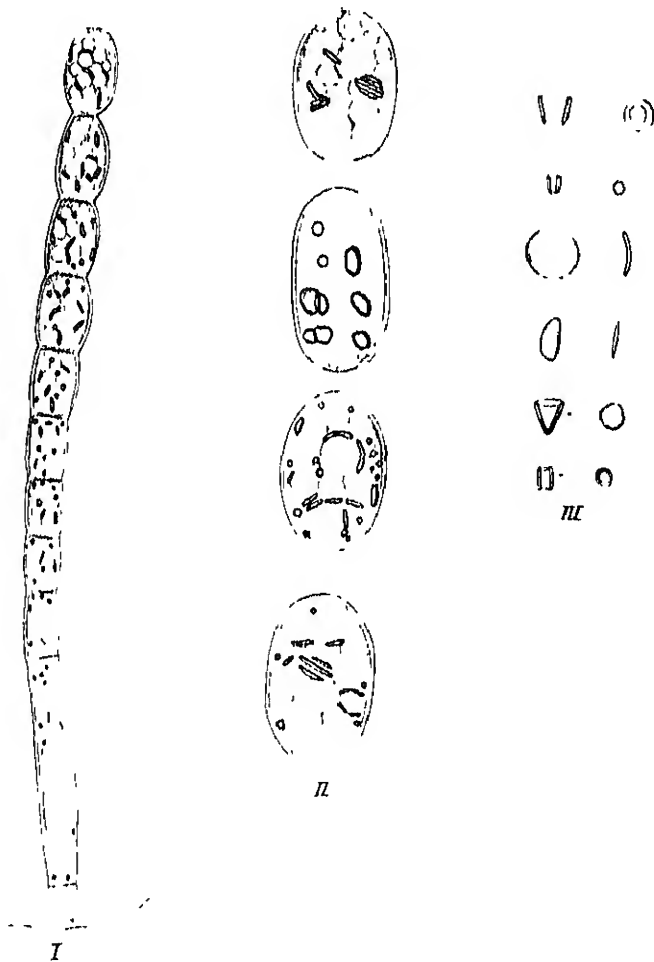


Fig. 130

*Podosphaera oxycanthae*. Fibrosinkörper

- I. Konidienreihe. Die dunkeln Punkte und Strichchen sind Fibrosinkörper. Vergr. 450.
- II. 4 einzelne reife Konidien mit ausgebildeten Fibrosinkörpern. Vergr. 690.
- III. Formen des Fibrosins in verschiedenen Ansichten. Vergr. 1000. Nach ZORF.

körper quellen etwas in siedendem Wasser. Mit Jodlösung oder Chlorzinkjod färben sie sich nicht. Sie sind schwer löslich in konzentrierter Schwefelsäure, unlöslich in Salpetersäure, Kupferoxydammoniak, Alkohol, Äther und Chloroform. Anilinfarbstoffe werden nicht gespeichert, durch Osmiumsäure werden sie nicht gebräunt. Da die Fibrosinkörper bei der Keimung der Sporen aufgelöst werden, scheinen sie als Reservestoff zu fungieren. Zorff (I, 278) glaubt eine Verwandtschaft mit der sogenannten Pilzzellulose annehmen zu sollen, es wäre daher zu prüfen, ob die Fibrosinkörner nicht vielleicht aus Chitin bestehen.

### 13. Die Elaeoplasten und Ölkörper.

#### a) Monokotyle.

Elaeoplast oder Ölbildner nannte WAKKER (II, 475) ein in der Epidermis der jungen Blätter von *Vanilla planifolia* vorkommendes

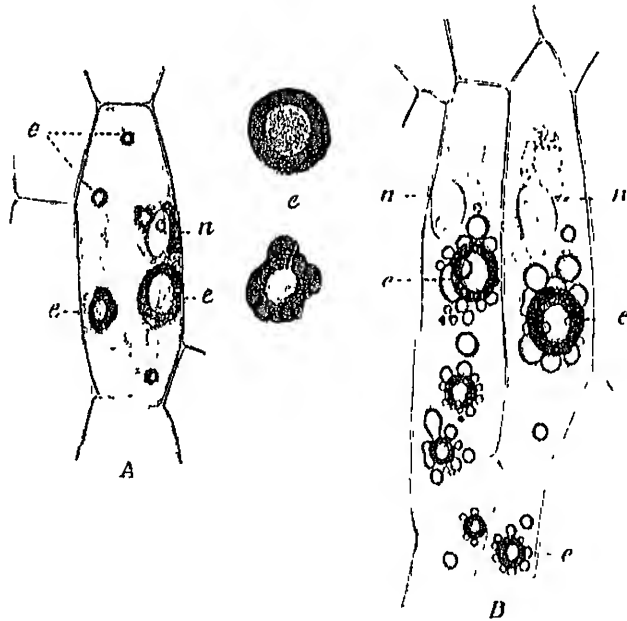


Fig. 131.

Elaeoplasten *e* in den Epidermiszellen der jungen Frucht von *Gnathogalum Bonchocanum*

A. Große und kleine Elaeoplasten *e* in der lebenden Zelle. Daneben rechts zwei Elaeoplasten stärker vergrößert. *n* Zellkern Vergr. 180.

B. Nach Behandlung mit Alkohol treten Öltropfen aus dem Elaeoplasten *e* heraus. *n* Zellkern. Vergr. 180.

Gewebe, das aus einer plasmatischen Grundlage und Öl besteht. Die Oberhautzellen führen einen Zellkern, rings um diesen zahlreiche Leuko-plasten und außerdem, dem Zellkern entweder dicht angeschmiegt oder an einem anderen Orte, den Elaeoplasten. Er ist etwas größer als der Zellkern, meist etwa 8 bis 12  $\mu$  breit, besitzt scharfe Umrisse und einen gelblichen, vielleicht durch das Öl hervorgerufenen Glanz.

Bei Behandlung mit konzentrierter Pikrinsäure bleibt der Elaeoplast erhalten, das Öl tritt aus und bleibt in nächster Nähe liegen. Eisessig oder Schwefelsäure treiben das Öl gleichfalls aus. Das Öl löst sich in Alkohol und Kalilauge, wird durch Alkannatinktur und Cyanin intensiv rot bzw. blau und durch Osmiumsäure dunkelbraun bis schwarz gefärbt. In den Schließzellen der Spaltöffnungen kommen mehrere, aber viel kleinere Elaeoplasten vor. In den alten Blättern fehlen sie. Bei jungen Wurzeln und Stengeln können sie in den oberflächlich gelegenen Zellen gleichfalls auftreten.

Später hat ZIMMERMANN (II, 186; V, 166) Elaeoplasten auch bei einigen anderen Monokotylen nachzuweisen vermocht: *Funkia lanceifolia*, *F. coerulescens*, *F. Sieboldiana*, *Dracaena* sp., *Ornithogalum scilloides*, *Agave americana*, *A. mitis*, *Oncidium suave*, *Maxillaria picta*, *Bechorneria bracteata* und im Stengel eines Pteridophyten, nämlich von *Psilotum*. RACIBORSKI (I) hat die Elaeoplasten verschiedener *Ornithogalum*-, *Albucca*-, *Funkia*- und *Gagea*-Arten beschrieben. Elaeoplasten wurden von POLITIS (I) bei 22 monokotylen Familien und auch bei dicotylen (Malvaceen) nachgewiesen. Immerhin erscheint ihre Verbreitung beschränkt. Bei *Funkia*, *Dracaena* und *Ornithogalum* (Fig. 131) kommen sie in der Blütenregion (Perianth, Fruchtknoten), aber nicht in den Laubblättern vor. Meistens birgt jede Zelle nur einen Elaeoplasten, bei *Ornithogalum* aber mehrere. Die Gestalt der Elaeoplasten ist verschieden: kugelig, traubenförmig, plasmodienartig, unregelmäßig gelappt. Bezüglich des Baues und der chemischen Eigenschaften konnte ZIMMERMANN die Angaben WAKKERS bestätigen. Die Entstehung der Elaeoplasten hat RACIBORSKI bei *Ornithogalum umbellatum* verfolgt. Hier treten sie als stark lichtbrechende Kugeln auf, die immer am Pole des länglichen Zellkerns liegen. Sie vermehren sich durch Neubildung aus dem Cytoplasma, selten durch Knospung oder durch Teilung. Nach MEYER (VII, 286) dienen die Elaeoplasten als Bau- oder Reservestoff.

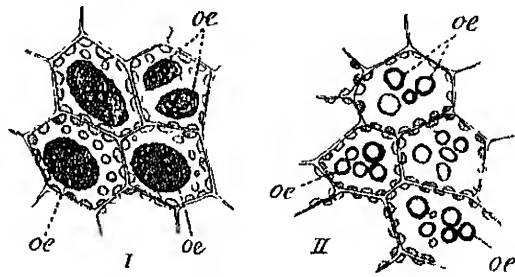


Fig. 132.

I. 4 Zellen aus dem Blatte von *Radula complanata* mit großen Ölkörpern *oe*. Vergr. 360.

II. 4 Zellen aus dem Blatte von *Frullania dilatata*. In jeder Zelle mehrere kleine Ölkörper *oe*. Vergr. 360.

#### b) Lebermoose.

Die meisten beblätterten Lebermoose enthalten in den Blattzellen olartige Inhaltskörper, die bereits von GOTTSCHKE bemerkt, aber erst von PFEFFER (I, I), WAKKER, GARJEANNE (I), MEYER (VII, 350) und KÜSTER (I) genauer untersucht worden sind. Sie sehen bald wie Öltropfen, bald wie aus Öltropfen bestehende emulsionsartige Massen, bald wie eiförmige, ellipsoidische oder zusammengesetzten Stärke-

körnern ähnliche Gebilde aus (Fig. 132). Sehr groß sind sie, abgesehen von den Marchantiaceen, wo sie gleichfalls vorkommen, bei *Radula complanata* und bei *Alienularia scalaris*. Sie erreichen hier bis 20  $\mu$ . Wenn man zu einem Blatt von *Radula complanata* verdünnten Alkohol (1 Teil Alkohol, 2 bis 3 Teile Wasser) unter Deckglas treten läßt, so fließen die einzelnen Tröpfchen, aus denen der emulsionsartige Ölkörper besteht, rasch zu einem großen Tropfen zusammen, wobei eine membranartige, aus Eiweiß bestehende Substanz übrig bleibt. Diese Tropfen lösen sich leicht in Weingeist, Benzol, Äther und Schwefelkohlenstoff. Beim Kochen verschwinden sie nicht. PFEFFER ist auf Grund dieser und einiger anderer Eigenschaften der Ansicht, daß die Ölkörper der Hauptmasse nach aus einem Gemenge von fettem Öl und Wasser bestehen, von Wasser deshalb, weil sie sich in Wasser entziehenden Mitteln zusammenziehen und auch ihre Form ändern. Dagegen sprechen aber die makrochemischen Beobachtungen LOHMANN'S (1) über die Ölkörper von *Mastigobryum*, wonach diese der Hauptsache nach aus einem Gemisch ätherischer Öle bestehen.

Die verhältnismäßig großen Ölkörper der Marchantiaceen haben ein emulsionsartiges Aussehen und bei *Fegatella conica* sowie bei *Marchantia* eine bräunliche und bei *Lunularia* eine dunkel-braunrote Farbe. In ihrem Verhalten gegen Reagentien gleichen die Ölkörper von *Fegatella*, *Marchantia* und *Preissia commutata* denen von *Radula complanata*. Die gedrückten Ölkörper von *Lunularia* geben mit Eisenvitriol eine schwarzblaue und mit Kaliumbichromat eine rotbraune Färbung was für Gerbstoff spricht.

WAKKER (11, 482) hat die Ölkörper gleichfalls makrochemisch untersucht und kommt zu demselben Resultate wie PFEFFER. Er konstatierte auch die membranartige Hülle, hält sie aber für plasmatisch und zählt daher die Ölkörper der Lebermoose zu den Elaeoplasten. Nach PFEFFER (1, 33) entstehen die Ölkörper an beliebigen Stellen der Zellflüssigkeit aus Öltröpfchen. Dieser Auffassung stimmt auch KOZŁOWSKI (1) zu. Haben die Ölkörper eine plasmatische Grundlage, wie es WAKKER behauptet, so möchte man nach anderweitigen Erfahrungen glauben, daß sie unter Vermittelung plasmatischer Gebilde entstehen, aber bewiesen wurde dies bisher nicht. Bei *Scapama* wo WAKKER die Entwicklungsgeschichte verfolgte, traten sie „ziemlich plötzlich als schlauchförmige, scharf umgrenzte Organe auf“, in denen noch kein Öl zu sehen ist. Eine klare Einsicht in die Entwicklung der Ölkörper ist aus den Untersuchungen WAKKER'S, wie er selbst zugibt, nicht zu gewinnen; er hält es für wahrscheinlich, daß die Elaeoplasten der Lebermoose metamorphosierte Chlorophyllkörner sind, eine Ansicht, die gerade nicht sehr plausibel erscheint. KRSTER glaubt, daß zuerst das Stroma als unregelmäßig konturiertes Gebilde entsteht, in dem später die Öltröpfchen auftauchen. Die Beobachtungen gehen in wichtigen Punkten noch auseinander; sogar über die Existenz der Hüllhaut der Ölkörper herrscht noch keine Einigkeit, denn KRSTER hält sie im Gegensatz zu PFEFFER und WAKKER für eine Gerinnungsmembran, hervorgerufen durch die Reagentien, also für ein Kunstprodukt. MEYER (VII, 352) bestreitet sogar die Gerinnungsmembran. Das, was den Beobachtern als Hülle erschien, ist nach ihm nur das fixierte Zytoplasma. Physiologisch dürften die Ölkörper wohl als Exkrete

aufzufassen sein, denen vielleicht eine ökologische Rolle zufällt, als Schutzmittel gegen Schneckenfraß im Sinne von STAHL (I, 49) oder als Lichtschirm gegen allzustarke Beleuchtung, wie bei den blauen Ölkörpern von *Calypogeia Trichomanis* (THERONYMUS I, 468).

#### e) Ölkörper anderer Pflanzen und Verwandtes.

RADIKOFER (I, 11), MONTEVERDE (I), SOLEREDER (I), SERTORIUS (I, 505) und LIDFORSS (II) haben im Schwamm- und Palisadenparenchym zahlreicher Arten aus den Familien der Cordiaceen, Combretaceen, Cinchoneen, Sapotaceen, Sapindaceen, Gramineen, Gaertneraceen, Rubiaceen und Cornaceen Öl- oder Fettkugeln, meist je eine in einer Zelle, nachgewiesen. Sie liegen nach MONTEVERDE im Plasma, geben im allgemeinen die Reaktionen der Fette, sind meist isotrop, bei manchen Pflanzen, wie z. B. bei *Gaertnera* und *Pagamea* (SOLEREDER I, 85) auch doppelbrechend.

Erwähnt seien ferner noch die von SCHULT (I) im Plasma der Peridineen beobachteten „Fettplatten“, die im Gegensatz zu den Chromatophoren kein Chlorophyll führen und sich mit Osmiumsäure färben. Sie bilden kleine rundliche Plättchen oder größere Tafelchen mit buchtig lappiger Begrenzung. Sie sollen aus kleinen farblosen Plättchen hervorgehen, die SCHULT als „Fettbildner“ oder „Plastiden“ bezeichnet.

Die von LIDFORSS (I) bei *Potamogeton*-Arten beschriebenen Ölplastiden gehören nicht hierher, da sie nicht aus Fett, sondern wahrscheinlich aus einem aromatischen Aldehyd bestehen (LIDFORSS I, vgl. p. 158).

Die von BERNHOLD als Lichtschutzorgane beschriebenen kirschförmigen Inhaltskörper verschiedener Florideen sollen nach HANSEN aus Glykogen bestehen, nach GOLENKSIN (I) aber echte Elaeoplasten sein. Wenn sie es waren, mußte nach Auflösung des Öls die plasmatische Grundlage zurückbleiben. Dies ist aber nicht der Fall, denn die fraglichen Körper lösen sich in 50proz. Alkohol sofort ohne Rückstand auf. Ich glaube daher, daß auch GOLENKSINs Angaben einer Nachprüfung bedürfen.

### II. Die Filargebilde der Moose.

VON BORESCH (I, II) wurden eigenartige netz- und fadenförmige Gebilde, die schon während des Lebens ohne jede weitere Präparation und bereits bei mittlerer Vergrößerung sichtbar sind, besonders in den Blattzellen der Moose nachgewiesen und eingehender bei *Fontinalis antipyretica* und *Funaria hygrometrica* studiert. Sehr schon gelangen diese Gebilde, die ich kurz als Filargebilde bezeichnen will, in den größeren und älteren Blättern, und zwar in den beiderseits am Blattgrunde gelegenen Öhrchen, zur Ausbildung. Sie stellen hier ziemlich dichte Knäuel oder Strähne von vielfach verschlungenen Fäden dar. Gewöhnlich findet sich in jeder Zelle des Blattöhrchens ein einziger Knäuel, der meist einer Längswand anliegt oder den Saft Raum quer durchsetzt oder wie die Spinne im Netz aufgehängt erscheint.

Die Fäden bestehen der Hauptmasse nach aus Fett (BORESCH I, 154).

Ähnliche Fäden und Netzstrukturen waren bereits in den Blattzellen von *Funaria hygrometrica* durch mehrere Forscher, so von SENN,

KNOIL, LINSBAUER und ARBANOVICZ (Liter. bei BORESCH I, 102) beschrieben worden.

Die Fadenbildungen sämtlicher untersuchter Laub- und Lebermoose erscheinen gleichförmig homogen oder mit kleinen, stark lichtbrechenden Tröpfchen besetzt, ändern beständig ihre Form, Lage und Sichtbarkeit und zerfallen, wenn man gewisse Stoffe (Chinin, Alkohol, Azeton, Äther, Chloroform usw.) diosmieren läßt, nach Durchlaufen charakteristischer Zwischenstufen (Myelinformen, Fadenstücke, Schleifen und Ringe) schließlich in feine, meist mikroskopisch sichtbare Tröpfchen, die lebhafte Brownsche Molekularbewegung zeigen. Wird der wirksame Körper durch Auswässern beseitigt, so bilden sich die Fäden auf Kosten der verschwindenden Tröpfchen wieder zurück, ohne daß die Zellen dabei anhaltend geschädigt wurden. Die beschriebenen Vorgänge sind also *intra vitam* reversibel.

### 15. Die irisierenden Platten und Kugeln in Meeresalgen.

Verschiedene lebende Braun- und Rotalgen glänzen bei starker Beleuchtung in den brillantesten Farben, am schönsten die *Chylocladia*-

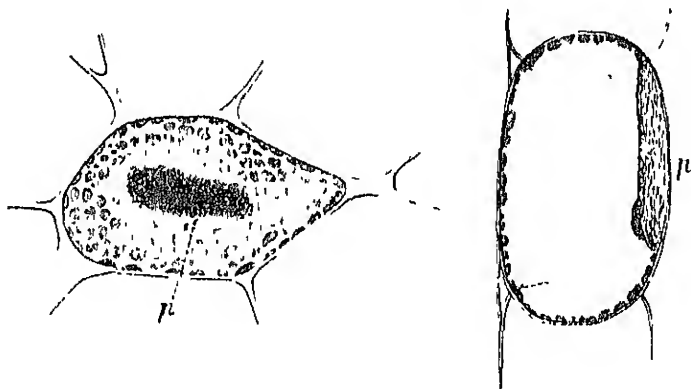


Fig. 135.

*Chylocladia reflexa*. Zelle links mit einer zentral gelagerten irisierenden Platte *p* in der Flächenansicht. Rechts dasselbe in der Seitenansicht. *p* im Profil. Nach BERTHOLD (II).

Arten. Die einen schimmern in blauen, die anderen in silberweißen, in rötlich-weißen oder in den verschiedenen Regenbogenfarben. Die Ursache dieser Reflexerscheinung ist, wie BERTHOLD (II, 569) entdeckt hat, ein stark lichtbrechender Inthaltkörper von eigenartiger Struktur. Bei *Chylocladia* besteht er aus einer schwach gelblich gefärbten, gegen das Cytoplasma scharf abgesetzten Masse, in der sehr kleine Kügelchen eingebettet sind (Fig. 133, I). Im Profil zeigt die Masse einen eigentümlichen Schimmer und eine Streifung parallel ihrer Flächenausdehnung (Fig. 133, II). Die Platten kommen nicht in allen Zellen vor. Sie fehlen namentlich im Innern der Rasen und den zwischen anderen Algen verborgenen Thallomzweigen. Am Rücken dieser sind die Platten der freien Außenseite angelagert, im allgemeinen stellen

sie sich alle ungefähr parallel dem stärksten einfallenden Lichte entgegen. Da sie eine bestimmte Stellung haben, so tritt der Farbenglanz auch nur am schönsten hervor, wenn man die Algen von einer bestimmten Seite betrachtet. Ihre Funktion besteht in der Abwehr allzu starken Lichtes und in der Zerstreuung des Lichtes nach verschiedenen Richtungen, um eine möglichst gleichmäßige Beleuchtung zu erzielen (BERTHOLD).

Läßt man destilliertes Wasser auf die Platten einwirken, so werden die darin liegenden Kügelchen undeutlich und schließlich durch Vakuolen ersetzt. Jod färbt die Platten braun, Osmiumsäure schwärzlich. Durch Jod, Osmiumsäure und Sublimat werden die Platten unlöslich. Daraus schließt BERTHOLD auf ihre Eiweißnatur.

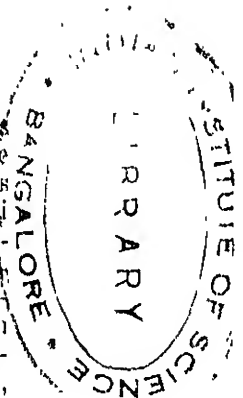
FADER (I) hat die irisierenden Körper von *Nitophyllum* sp. und *Taonionema* sp. aus Java untersucht und hat gleichfalls gefunden, daß sie aus einem eiweißartigen Stroma bestehen, in dem unter Einfluß intensiven Lichtes Kügelchen einer chemisch noch nicht definierbaren Substanz auftreten. Diese Kügelchen werden in heißem Wasser rasch gelöst und in Jodmeerwasser schwärzlich gefärbt. Sie sind die eigentliche Ursache des Irisierens, verschwinden im diffusen Lichte und erscheinen im intensiven wieder.

Es wäre aber wünschenswert, noch weitere mikrochemische Untersuchungen anzustellen, um die Proteinatur der irisierenden Platten zu erhärten, um so mehr, als WAKKER (II, 188) die nach BERTHOLD als Lichtreflektoren dienenden Inhaltskörper von *Lamella obtusa* und *Placodium coccineum* ihren Reaktionen nach als Elaeoplasten anzusprechen geneigt ist. Es wäre ja auch möglich, daß die bei verschiedenen Florideen und Phaeophyceen lichtreflektierenden Inhaltskörper chemisch überhaupt nicht einheitlicher Natur sind. Dieser Punkt erfordert genauere Untersuchungen.

## 16. Der Augenfleck.

Bei verschiedenen niederen Organismen bemerkt man gegen das Cytoplasma scharf abgesetzte rötliche oder braunliche Punkte, die besondere Organe der Zelle darzustellen scheinen. Man nennt dieses Organ Stigma oder Augenfleck. In der Regel kommt es nur bei chlorophyllhaltigen Organismen vor. Indem ich bezüglich des Vorkommens und gewisser Eigenschaften des Augenfleckes auf das Sammelreferat von ZIMMERMANN (V, 161) verweise, sei hier nur folgendes hervorgehoben. OVERTON (I, 65) fand sie bei allen phototaktisch reizbaren Schwarnsporen der grünen Algen (*Bulbochaete*, *Ulothrix*, *Draparnaldia*, *Stigeoclonium*, *Conferva*, *Microspora* usw.). Bei den Volvocineen, Chlamydomonaden (WOLLENWEBER I), zahlreichen Flagellaten und anderen niederen Lebewesen sind Stigmata nachgewiesen worden. Gewöhnlich in der Einzahl, doch kommen nach FRANCÉ (I, 142) bei *Microglena* konstant zwei und bei *Uroglena* meist drei vor. SCHERFFEL (I) fand bei einer *Bulbochaete*zoospore vier und bei einer nicht näher bestimmten *Chlamydomonas*-Zelle zwei Stigmen. Die von verschiedener Seite gemachte Angabe, daß *Synura* und *Syncrypta* Augenflecke besitzen, wird von SCHERFFEL (II) bestritten. Rote Tröpfchen haben hier Stigmen vorgetäuscht.

Die Stigmen sind nicht immer gleich; bei *Pandorina morum* finden sich in den Zellen des einen Pols auffallend große, in dem entgegen-





gesetzten Pol gar keine und dazwischen mäßig große Augenpunkte. Die Gestalt ist verschieden, meist scheibenförmig.

Der Augenfleck der Euglenen (Fig. 134) besteht nach KLEBS (I, 260) analog wie ein Chromatophor aus zweierlei Substanzen, aus einer plasmatischen Grundmasse, die ein feines Netzwerk bildet, und einem Farbstoff, der die Maschen des Netzes ausfüllt. Die Farbe des Pigments schwankt zwischen hell- und dunkelrot. Es ist löslich in Alkohol, Äther, Benzin und Schwefelkohlenstoff, färbt sich mit Jod schmutzig grün, mit Eisenchlorid schwarzblau, wird durch konzentrierte Schwefelsäure dunkelindigoblau, durch Salpetersäure himmelblau und ist daher als ein karotinartiger Stoff (vgl. p. 254) zu bezeichnen (KOHLE I, 15). Die roten Stigmata anderer Organismen verhalten sich gegenüber Schwefelsäure ebenso, desgleichen, wie ich mich überzeugt habe, das Stigma der Spermatozoiden von *Fucus*. In den Stigmata der Eugleniden sollen nach FRANCOÉ (I, 145) Paramylunkörner, in denen der Chlamydomonaden und Volvocineen Stärkekörner vorkommen, die zur Lichtkonzentration dienen sollen. Die physiologische Bedeutung der Augenflecke ist vorläufig noch strittig. Sie sollen bei der Lichtempfindung eine Rolle spielen.



Fig. 134.  
*Euglena* sp.  
mit rotem  
Augenfleck s.  
Vergl. 360.

## 17. Sogenannte Schleimvakuolen.

Im peripheren Teil vieler Phykokchromaceen finden sich, abgesehen von Eiweißkristalloiden oder Cyanophyceinkörnern (FISCHER I, 113), verschieden große Kugeln einer anscheinend zähflüssigen Substanz, die als Schleimvakuolen bezeichnet werden. Äußerlich sind sie nur schwer von den Cyanophyceinkörnern und den körnigen Einschlüssen des Zentralkörpers zu unterscheiden. Das ist der Hauptgrund, warum über die körnigen Bildungen der Cyanophyceenzelle so große Verwirrung herrscht. HEGLER (I, 308) unterscheidet die Eiweißkristalloide von den Schleimkugeln:

1. Durch ihre intensiv blauschwarze Färbung mit Methylenblau und Methylviolett in lebenden Zellen;
2. durch ihre Nichtfärbbarkeit mit S-Fuchsin und Essigkarmin; [H]
3. durch ihre rote bzw. rotviolette Tinktion mit verdünntem, saurem Hämatoxylin;
4. durch ihre Reaktion mit Vanillinsalzsäure;
5. durch ihre Konsistenz;
6. durch ihr Verhalten gegen Osmiumsäuregemische.

Bei Anwendung von Vanillinsalzsäure färben sie sich intensiv hellrot bis violettrot, was vielleicht auf Phloroglucin oder eine verwandte Substanz deutet. HEGLER nimmt jedoch von dieser Deutung Abstand und glaubt, daß es sich um einen eiweißähnlichen Schleimstoff handelt. Die Mikrochemie der körnigen Bildungen in der Cyanophyceenzelle gehört zu den unerfreulichsten Erscheinungen der Literatur, hauptsächlich, weil man auf Grund einer vieldeutigen Reaktion oder einer Färbung gleich einen bestimmten Körper nachzuweisen vermeint, anstatt sich vorläufig mit einem „ignoro“ zu bescheiden.

Schleime nachzuweisen ist an und für sich oft recht schwer, um wieviel mehr erst bei so außerordentlich winzigen Körnchen der Cyanophyceenzelle!

RADLKOFER und FELLNER (I) beobachteten bei verschiedenen Begonia-Arten eigenartige, unverkalkten Doppolecystolithen der Cucurbitaceen ähnliche Bildungen, die sich hauptsächlich aus geschichteten, öfters mit Harz infiltrierten Schleimen aufbauen, und ferner Sekretkugeln, die angeblich aus Harz bestehen. Obwohl sie streng genommen nicht hierher gehören, seien sie doch im Anhang zu den Schleimvakuolen erwähnt.

## 18. Die Gerbstoffblasen.

Bei zahlreichen Zygnemaceen treten in allen Zellen zahlreiche glänzende Bläschen auf, die in Alkohol und Äther rasch verschwinden, zwar wie Fetttropfchen aussehen, aber doch nicht aus Fett, sondern aus Gerbstoff bestehen (Fig. 135). PRINGSHEIM (III, 354) glaubt, daß die Bläschen vom Chromatophor gebildet, sezerniert und schließlich ins Plasma geführt werden. Sie bestehen aus einer Hülle, einem vorwiegend Gerbstoff führenden Inhalt und werden daher von PRINGSHEIM (III, 355) als Gerbstoffblaschen bezeichnet. Sie werden leicht zerstört. Störungen, die den Tod der Zelle herbeiführen, vernichten sie, wobei sich ihr Inhalt mit dem Zellinhalt mischt.

Gerbstoff kommt in besonderen Behältern, in sogenannten Gerbstoffvakuolen, auch bei Phanerogamen gar nicht so selten vor (KLEUCKER I). Während sie aber bei den Zygnemaceen gewöhnlich sehr klein und zahlreich sind, treten sie bei den Blütenpflanzen meist in geringer Zahl und in bedeutenderer Größe auf. Die Gerbstoffvakuolen bestehen nach KLEUCKER aus einer plasmatischen Hülle und aus einem stark lichtbrechenden Inhalt, der vorzugsweise aus Gerbstoff, aber nicht aus Eiweiß besteht. Sie entstehen im Plasma zuerst in Form fester Körnchen, die sich später in eine Vakuole umwandeln. Ihr Nachweis gelingt am besten durch Lebendfärbung mit Methylenblau (vgl. p. 175). Beispiele: Zygnemaceen, Wurzelhaube von *Pistia Stratiotes*, Blattstielgelenke von *Desmanthus plenus*, von *Mimosa*-Arten und Oxalideen (vgl. p. 149).

Erwähnt seien noch die gerbstoffähnlichen Tropfchen, die WALLIN (I) im Zellsafte der Strangseiden von Bromeliaceenblättern beobachtet hat. Ihre Besonderheit bestände darin, daß hier ein Gerbstoff weder im Zellsaft gelöst, noch in Vakuolen auftritt, sondern als im Zellsaft ausgeschiedene Tropfen erscheint.

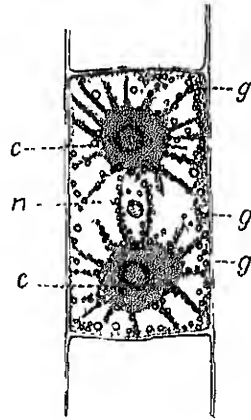


Fig. 135.  
Gerbstoffbläschen in der Zelle von *Zygnema* in Form zahlreicher Kugeln zerstreut. *c* sternartiger Chromatophor, *n* Kern. Vergr. 350.

## 19. Volutin.

### Vorkommen.

MEYER (V, VI, VII) hat zunächst in Bakterien einen meist in Form von Klümpchen auftretenden Reservestoff gefunden, dem er den Namen Volutin gegeben hat.

Dieser von MEYER und seinem Schüler GRIMME (1) genauer beschriebene Körper ist ziemlich weit verbreitet und wurde später auch bei Blaualgen, Euglenen, Diatomeen, Volvocaceen, Phaeophyceen, Rhodophyceen, Ascomyceten, Saccharomyceten, Beggiatoa-Arten, Basidiomyceten, Ustilagineen, Zygomyceten u. a. nachgewiesen.

**Eigenschaften und Nachweis.** Das Volutin bildet kleine farblose, amorphe Massen von stärkerer Lichtbrechung als das Plasma. Sie sind zähflüssig oder steifbreiig, wie man sich z. B. an den großen, aus der Zelle herausgequetschten Volutinkörnern von *Spirillum volutans* überzeugen kann, und erscheinen zwischen gekreuzten Nikols niemals hell. Seltener stellen sie einfache, doppelbrechende (*Amphora ovalis*, *Cymbella gastroides*) oder verwachsene Sphärite mit lockeriger Oberfläche dar (*Navicula*-Arten usw.). Die Volutinkörner treten in der Zelle in der Ein- oder Mehrzahl auf, sie sind unregelmäßig zerstreut, in einer Reihe oder polar angeordnet in zylindrischen Zellen. Ihre Größe schwankt zwischen 0,2 bis 6  $\mu$ .

**Wasser.** Bei 80° lösen sie sich schon nach 5 Minuten, im siedenden noch schneller. Nach Vorbehandlung mit absolutem Alkohol wird das Volutin schwer löslich und nach der mit Formol (5 Minuten) löst es sich auch in siedendem Wasser nicht.

Konzentrierte Pikrinsäure fixiert Volutin und macht es für kaltes Wasser unlöslich.

Alkohol, Chloroform und Äther lösen nicht.

Alkalien (5proz. oder konzentrierte Natriumkarbonatlösung sowie Ätzkalilösung) lösen in 5 Minuten völlig.

Säuren (5proz. Schwefelsäure oder Salzsäure) lösen es nach 5 bis 10 Minuten, 1proz. erst nach 24 Stunden.

Konzentrierte Jodjodkaliumlösung färbt gelb. Gegen Trypsin und Pepsin verhält sich Volutin indifferent.

MILLONs Reagens, Rohrzuckerlösung + konzentrierte Schwefelsäure, VANILLINSALZsäure, FEHLINGs Lösung, Chlorzinkjod geben mit Volutin keine auffallenden Reaktionen.

**Färbung.** Verschiedene organische Farbstoffe färben das Volutin.

Methylenblau 1 + 10 (1 Vol. ges. Lösung von MERTENSs Methylenblau + 10 Vol. Wasser) färbt rotlich-blau oder dunkelblau, wobei die Volutinkörner bedeutend aufquellen.

Methylenblau 1 + 10, dann 1proz. Schwefelsäure. Man färbt lebendes oder am Deckglas angetrocknetes und durch die Flamme gezogenes Material mit Methylenblau und saugt 1proz. Schwefelsäure unter dem Deckglas durch. Es wird dann alles entfärbt, nur das Volutin bleibt dunkelblau. Setzt man nach der Absaugung der Farblosung Jodjodkaliumlösung hinzu, so färbt sich der Protoplast braun und das Volutin schwarz. Rutheniumlösung (0,02 g Rutheniumrot in 10 ccm heißem Wasser frisch gelöst) färbt das Volutin intensiv rot. Bestimmtes läßt sich über die chemische Natur nach den aufgezählten Eigenschaften nicht aussagen, doch hält es MEYER (VI, 245) nach seinen gesamten Erfahrungen für wahrscheinlich, daß das Volutin eine Nukleinsäureverbindung, jedoch kein Nukleoprotein ist. Nach ZUKES (1) hingegen ist das Volutin ein Eiweißstoff, der zu den Nukleoproteiden gehört, da sich darin sowohl Nukleinbasen als auch Phosphorsäure vorfinden. Vollständige Klarheit wird wohl erst die Makroanalyse bringen.

## 20. Die künstlichen Fällungen.

Der Plasma- und Zellsaft stellt nicht selten eine recht konzentrierte Lösung gewisser Substanzen dar, und daher erscheint es begreiflich, daß bei starkem Welken, Eintrocknen oder bei Wasserentzug infolge plasmolysierender Mittel gelöste Stoffe in fester Form häufig ausgeschieden werden. Beispiele solcher Ausscheidungen (Zucker, Inulin, phosphorsaurer Kalk, Salpeter usw.) wurden bereits früher namhaft gemacht. Hier soll auch auf einige spezielle Fälle hingewiesen werden, wo auch intra vitam Ausscheidungen und Fällungen erzielt werden können, die ihrer chemischen Natur nach zumeist nicht bekannt sind, die aber in vielen Fällen aus Gerbstoffen und aus proteinartigen Körpern bestehen.

Anthocyanhaltige Zellen, z. B. die Blatt-Epidermiszellen von *Tradescantia discolor* oder *T. zebrina* zeigen, wenn sie mit 10proz. Kochsalzlösung behandelt werden, rasch Plasmolyse, und nach einiger Zeit scheidet sich infolge des Wasserentzuges das Anthocyan in tief rotvioletten Kügelchen ab.

Schon auf p. 174 wurde bemerkt, daß Gerbstoffe sehr leicht durch Alkalikarbonate in Form kugeligter Gebilde gefällt werden. Bokorny (I) hat gezeigt, daß nicht nur die erwähnten Carbonate, sondern zahlreiche basisch reagierende Stoffe überhaupt dieselbe Reaktion geben: Ammoniak, Kali-, Natronlauge, Aminbasen, wie Mono-, Di-, Triäthylamin, Nhydroxylamin, verschiedene Alkaloide, z. B. Strychnin, Chinin, Atropin, Veratrin, Chinolin, Coffein, desgleichen Antipyrin. Ein dankbares Objekt ist *Spirogyra*. Wird ein lebender Faden dieser Alge mit verdünnter Ammoniaklösung (1 bis  $\frac{1}{200}$  %) behandelt, so scheiden sich nach etwa 10 bis 20 Minuten im Zellinhalt zahlreiche kleine farblose Körnchen, Proteosomen genannt, aus, die im Plasma und Zellsaft liegen können. War die Verdünnung sehr groß, so entstehen die Körnchen, ohne daß das Leben der Alge aufhört. Durch Einlegen solcher Fäden in reines Wasser verschwinden die Körnchen, und die Zellen erscheinen wieder ganz normal. Bei Verwendung einer 5proz. Coffeinelösung auf *Spirogyra maxima* oder *orthospira* entstehen im Zellsaft Hohlkugeln von relativ bedeutender Größe bei Benutzung einer 0,5proz. viel kleinere. Die Befähigung, Proteosomen zu bilden, findet sich nicht bloß bei Algen, sondern auch bei höheren Pflanzen, z. B. bei Staubbäumen von *Eugenia* und *Melaleuca*, jungen Blättern von *Mimosa pudica*, *Nymphaea zanzibarensis*, jungen Petalen von *Drosera*, *Cyclamen*, *Tulipa* usw. [Loew und Bokorny (I, 118)]. Schöne Dauerpräparate von Proteosomen gewinnt man, indem man die Objekte einen Tag in einer 0,5proz. Coffeinelösung, ebensolange in einer 0,1proz. Ammoniaklösung liegen läßt, Fett und Chlorophyll durch Ätheralkohol auszieht, endlich in sehr verdünnter Methylgrünessigsäure färbt und in mit Essigsäure angesäuertem verdünnten Glycerin einbettet [Loew und Bokorny (I, 118)].

Über die stoffliche Zusammensetzung der Proteosomen gehen die Ansichten recht weit auseinander. Loew und Bokorny sind der Ansicht, daß die Proteosomen aus „aktivem Eiweiß“ bestehen, während Pfeffer (III) und Klemm (I) behaupten, daß sie sich aus Gerbstoff zusammensetzen. Der Nachweis der Eiweißnatur bei so

kleinen Kügelchen ist natürlich nicht leicht, doch gelingt nach LOEW und BOKORNY (I, 120) die MILLONsche Reaktion nach Erwärmen leicht und ebenso auch die Biuretreaktion, sofern man nicht die frischen Proteosomen, die sich in Kalilauge leicht lösen, sondern die durch Ammoniak fixierten prüft. KLEMM (I, 415) betrachtet die Eiweißnatur der Proteosomen als problematisch, hingegen den Gerbstoff in den meisten Fällen als den einzig sicher nachgewiesenen Körper. KLEMM (II, 411) gibt aber zu, daß Proteosomenbildung bei *Spirogyra* auch in völlig gerbstofffreien Exemplaren eintritt. Es ist nicht leicht, zu entscheiden, auf welcher Seite die Wahrheit liegt, bevor nicht durch genaue mikrochemische Untersuchungen festgestellt sein wird, ob die Proteosomen verschiedener Pflanzen überhaupt einheitlicher Natur sind. S. p. 176.

**Silberabscheidung.** 1881 entdeckten LOEW und BOKORNY (II) die interessante Tatsache, daß in lebenden Pflanzenzellen aus verdünnter, schwach alkalischer Silberlösung Silber reduziert wird. Sie verwendeten hauptsächlich zwei Lösungen (A und B).

**Lösung A** besteht aus einer mit Kali versetzten ammoniakalischen Silberlösung, die hergestellt wird, indem man erstens 13 cem Kalilösung von 1,33 spez. Gew. (Gehalt  $33\frac{1}{2}\%$  KOH) mit 10 cem Ammoniakliquor von 0,96 spez. Gew. (Gehalt  $9\%$   $\text{NH}_3$ ) mengt und auf 100 cem verdünnt, und zweitens eine Lösung von  $1\%$  Silbernitrat bereitet. Je 1 cem beider Lösungen werden vor dem Gebrauch gemischt und die Mischung auf 1 Liter verdünnt.

**Lösung B** stellt eine wässrige Lösung von Silberoxyd dar und wird bereitet, indem man auf 1 Liter einer Lösung von  $1/100000$   $\text{AgNO}_3$  5 bis 10 cem gesättigtes Kalkwasser zusetzt.

Wegen der außerordentlich verdünnten Lösungen darf die Reaktion nicht im Tropfen vorgenommen werden, sondern die Objekte müssen in geringer Zahl längere Zeit (6 bis 12 Stunden) in einer größeren Menge des Reagens ( $\frac{1}{2}$  bis 1 Liter) liegen. Durch schwaches Erwärmen der Lösung auf  $30^\circ$  kann die Reaktion oft beschleunigt werden. Die eingetretene Silberreduktion äußert sich in verschiedener Weise. Das Plasma erscheint im ganzen oder inselweise oder samt den Chromatophoren infolge des abgeschiedenen Silbers schwarz. Die Versuche gelingen gut mit *Spirogyra*, *Zygnema*, mit Haaren höherer Pflanzen, Zweigen und Wurzeln. Merkwürdigerweise versagt die Reaktion bei *Oedogonium*, *Oscillaria*, *Nostoc*, *Batrachospermum*, Diatomeen und vielen Pilzen. Getötete Zellen geben die Reaktion nicht und deshalb sehen LOEW und BOKORNY darin eine Lebensreaktion, die durch die Aldehydgruppen des aktiven Eiweiß zustande kommen soll.

Die aus der Silberreduktion von LOEW und BOKORNY (II) abgeleiteten Schlüsse und hypothetischen Vorstellungen haben, weil viel zu weitgehend, von PFEFFER (III) und seiner Schule eine scharfe, abweisende Kritik erfahren, auf die hier verwiesen, aber nicht eingegangen werden kann.

**Aggregation.** Mit der Proteosomenbildung darf nicht jener Vorgang verwechselt werden, den DARWIN (I) in den Tentakelzellen von *Drosera rotundifolia* entdeckt hat und den man als Aggregation bezeichnet. Bei dieser, namentlich von DE VRIES (I) studierten Erscheinung handelt es sich im wesentlichen darum, daß unter gleichzeitiger Steigerung der Plasmaströmung der innere Saft Raum der Zelle infolge einer

chemischen Reizung in mehrere kleinere Vakuolen zerfällt. Das Volum der Vakuolen nimmt dabei ab, das des Plasmas zu. Dieser Vorgang läßt sich in anthocyanreichen Tentakeln leicht beobachten, da hier der rote Farbstoff die Vakuolen besonders deutlich macht. Die Aggregation tritt ein, wenn man die Tentakeln mit einem Insekt, Eiweiß, Fleisch versetzt oder mit einer 1proz. Lösung von kohlensaurem Ammon oder anderen basischen Stoffen (KLEMM II) behandelt.

Als Folgeerscheinungen der Aggregation treten auch Fällungen ein, vorausgesetzt, daß die chemische Reizung eine starke ist. Bei mechanischer und schwacher chemischer Irritation unterbleiben sie. Die Fällungen bestehen aus Gerbstoff, Eiweiß usw., färben sich infolge der Speicherung von Anthocyan rot und bilden zuerst feinkörnige, dann größere kugelige Massen. Diese Fällungen erinnern, zumal sie auch durch basische Stoffe hervorgerufen werden können, an die vorhin behandelten Proteosomen anderer Pflanzen, womit aber nicht gesagt werden soll, daß es sich immer um identische Körper handelt.

Nach JANSON (I) herrscht eine große Übereinstimmung zwischen den durch Coffein hervorgerufenen Ausscheidungen in den Tentakeln von *Drosera* und denen, die LOEW und BOKORNY in verschiedenen Pflanzen und besonders bei *Spirogyra* erhielten (Proteosomen). JANSON sieht in der Aggregation „einen Abschnürungsvorgang des Vakuoleninhalts, welcher aus einer stark gequollenen Masse von Eiweißnatur besteht“.

## Literatur

zu p. 363 bis 407.

- Amadei, G., I. Über spindelförmige Eiweißkörper in der Familie der Balsamineen (Bot. Zbl. 1898, Bd. LXXIII, p. 33.)
- Baccarini, I. Sur cristalloïdi florali di alcune Leguminose (Bull. della Società bot. Italiana 1895, p. 139.)
- Bambeck, Ch. van, I. Le mycélium de *Lepiota meleagris* (Mémoires de l'Acad. royale des scienc. des lettres et des beaux arts de Belgique. 1902, Bd. LIV.)
- Belzung, I. E., Recherches morph. et physiol. sur l'amidon et les grains de chlorophylle. (Ann. d. scienc. nat. 1887, sér. 7, Bd. V, p. 223.)
- Berthold, G., I. Studien über Protoplasma-mechanik. Leipzig 1886.
- , II. Beiträge zur Morphologie und Physiologie der Meeresalgen. (Jahrb. f. wiss. Bot. 1882, Bd. XIII.)
- Biedermann, W., I. Stärke, Stärkekörner und Stärkelösungen. (Pflügers Archiv f. d. ges. Physiologie. 1920, Bd. CLXXXIII, p. 168.)
- Böhm, J., I. Sitzungsber. d. Kais. Akad. d. Wiss. in Wien 1866, Bd. XXII, p. 479.
- Bokorny, Th., I. Über die Einwirkung basischer Stoffe auf das lebende Protoplasma. (Jahrb. f. wiss. Bot. 1888, Bd. XIX, p. 206.)
- Boresch, K., I. Über fadenförmige Gebilde in den Zellen von Moosblättern und Chloroplastenverlagerung bei *Funaria*. (Zeitschr. f. Botanik 1914, Jahrg. VI, p. 97.)
- , II. Über den Eintritt und die emulgierende Wirkung verschiedener Stoffe in Blattzellen von *Fontinalis antipyretica*. (Bioch. Zeitschr. Berlin 1919, Bd. CI, p. 110.)

- Borodin, I. Über die Wirkung des Lichtes auf die Entwicklung von *Vaucheria sessilis*. (Bot. Ztg. 1878, p. 497.)
- Borzi, A., I. Sui cristalloidi nucleari del „*Convolvulus*“. (Contrib. alla biol. e fis. veg. di A. Borzi, 1894, Bd. I.)
- Briosi, I. Über normale Bildung von fettartigen Substanzen im Chlorophyll. (Bot. Ztg. 1873, p. 632.)
- Bruns, E., I. Die Inhaltskörper der Meeresalgen. (Flora 1894.)
- Ghmilewskij, W., I. Über Bau und Vermehrung der Pyrenoiden bei einigen Algen. (Refor. im Bot. Zbl. 1897, Bd. LXIX, p. 277.)
- Cohn, F., I. Jahrb. d. schles. Ges. f. v. K. 1869, p. 72.
- Crato, E., I. Die Physode, ein Organ des Zellenleibs. (Ber. d. Deutsch. bot. Ges., 1892, p. 10.)
- , II. Über die HANSTEESENSchen Fucosankörner. (Ebenda 1893, Bd. XI.)
- Darwin, Ch., I. Insektenfressende Pflanzen. Stuttgart 1876, p. 33.
- Dufour, I. Notices microchimiques sur le tissu épidermique des végétaux. (Bull. soc. Vand. sc. nat. T. XXII, p. 94.)
- Faber, F. C. v., I. Über die Organisation und Entwicklung der irisierenden Körper der Florideen. (Zeitschr. f. Bot. 1913, Bd. V, p. 801.)
- Fellner, C., I. Beitr. z. Anat. u. System. d. Begoniaceen. Diss. 1892, München.
- Figdor, W., I. Annales du Jardin de Botanique de Buitenzorg. (1896), T. XIV, p. 213.
- Fischer, A., I. Die Zelle der Cyanophyceen (Bot. Ztg. 1906, Jahrg. 63, p. 113.)
- Francé, R., I. Zur Morphologie und Physiologie der Stigmata der Mastigophoren. (Zeitschr. f. w. Zool. 1893, Bd. LVI, p. 138.)
- , II. Die Lichtsinnesorgane der Algen. Stuttgart 1908 Monographien zum Ausbau der Entwicklungslehre. Kosmos, Ges. d. Naturfr.
- Gardiner, W., I. On the Phenomena accompanying Stimulation of the Gland-Cells in the Tentacles of *Drosophila dichotoma*. (Proceed. of the R. Soc. London. V., T. XXXIX, p. 229.)
- Garjeanne, A., I. Die Ölkörper der Jungermanniales. (Flora 1903 Bd. XCII, p. 457)
- Gieckhorn, J., I. Über das Vorkommen spindelförmiger Erweißkörper bei *Opuntia*. (Österr. bot. Ztsch. 1913, Jahrg. 63, p. 8.)
- Godlewski, E., I. Ist das Assimilationsprodukt der Musaceen Öl oder Stärke? (Flora 1877, p. 215.)
- Goeppert, H. R., und Cohn, F., I. Über die Rotation des Zellinhalts in *Nitella flexilis*. (Bot. Ztg. 1849, Jahrg. 7, p. 665.)
- Golenkin, M., I. Algologische Notizen. (Bull. d. l. Soc. Impér. des Natur. d. Moscou. 1894, No. 2)
- Gottlieb, J., I. Annalen d. Chemie u. Pharm. 1860, Bd. LXXV, p. 50.
- Grimme, I. Die wichtigsten Methoden der Bakterienfärbung in ihrer Wirkung auf die Membran, den Protoplasten und die Einschlüsse der Bakterienzelle. (Diss. Marburg 1902.)
- Hansen, A., I. Über Stoffbildung bei den Meeresalgen (Mitt. d. zool. Stat. z. Neapel, Bd. XI, Heft 2.)
- Hansgirg, A., I. Ein Beitrag zur Kenntnis einzelliger Bildungen der Meeresvorkeime usw. (Flora 1886, p. 291.)
- Hansteen, B., I. Studien zur Anatomie und Physiologie der Fucoiden. (Jahrb. f. wiss. Bot. 1892, Bd. XXIV.)
- , II. Über das Fucosan als erstes scheinbares Produkt der Kohlensäureassimilation bei den Fucoiden. (Ebenda 1900, Bd. XXXV.)

- Hartig, T., I. Bot. Ztg. 1855, p. 881; 1856, p. 267.
- Hogler, R., I. Untersuch. über die Organisation der Phykochromatozelle. (Jahrb. f. wiss. Bot. 1901, Bd. XXXVI, p. 229.)
- Heinricher, E., I. Über die Arten des Vorkommens von Eiweißkristallen bei Lathraea usw. (Jahrb. f. wiss. Bot. 1900, Bd. XXXV, p. 28.)
- , II. Mitteil. d. naturw. Ver. f. Steiermark 1886, p. 168.
- , III. Zur Biologie v. Nepenthes usw. (Ann. d. jardin d. Buitenzorg 1906, T. V, sér. 2, p. 282.)
- , IV. Verwendbarkeit d. Eau de Javelle zum Nachweis kleinster Stärkemengen. (Zeitschr. f. Mikroskopie 1888, Bd. III, p. 218.)
- Henckel, H., I. Über d. Bau d. veget. Organe v. *Cystoclonium purpurascens*. (Nyt. Magazin for Naturvidenskaberne, Bd. XXXIX, Christiania 1901.)
- Hieronymus, G., I. Über *Dieranochaete reniformis*, eine neue *Protococcaceae* d. Süßwassers. (Beitr. z. Biologie d. Pflanze 1892, Bd. V, p. 351.)
- Höbnel, F. v., I. Anatom. Unters. II. einige Sekretionsorgane d. Pflanzen. (Sitzungsber. d. Kais. Akad. d. Wiss. in Wien 1881, p. 589.)
- Holle, H. G., I. Über die Assimilationstätigkeit von *Strelitzia Reginae*. (Flora 1877.)
- Huie, L. H., I. On some Protein Crystalloids etc. (La Cellule 1895, T. XI, p. 83.)
- Janson, Erna, I. Studien über die Aggregationserscheinungen in den Tentakeln von Diatomeen. (Beihefte z. Bot. Zbl. Bd. XXXVII, I. Abt., Hft 2, 1920, p. 154.)
- Kallen, I. Verhalten des Plasmakörpers von *Urtica urens*. (Flora 1882.)
- Klebahn, H. I. Studien über Zygoten I. (Jahrb. f. wiss. Bot. 1891, Bd. XXII, p. 426.)
- Klebs, G., I. Über die Bildung der Fortpflanzungszellen bei *Hydrodictyon utric*. (Bot. Ztg. 1891, Nr. 48.)
- , II. Flagellatenstudien. (Zeitschr. f. wiss. Zoologie, Leipzig 1893, Bd. XXV, p. 395.)
- , III. Über die Organisation einiger Flagellaten-Gruppen und ihre Beziehung z. Algen und Infusorien (Untersuch. a. d. bot. Inst. z. Tübingen, Bd. I. Heft 2, p. 233.)
- Klein, J., I. *Pinguicula alpina* als insektenfressende Pflanze in anatomischer Beziehung (Conss. Beitr. z. Biol. d. Pflanz. 1880, Bd. III, p. 163.)
- , II. Algologische Mitteilungen. (Flora 1877, p. 289.)
- , III. Zur Kenntnis d. *Pilobolus*. (Jahrb. f. wiss. Bot. 1872, Bd. VII, p. 337.)
- Klemm, P., I. Beitr. z. Erforschung d. Aggregationsvorgänge i. lebend. Pflanzenzellen. (Flora 1892, Jahrg. 75, p. 413.)
- , II. Über die Aggregationsvorgänge in *Crassulaceenzellen*. (Ber. d. Deutsch. bot. Ges. 1892, p. 237.)
- Klecker, J., I. Studien über die Gerbstoffvakuolen. (Diss. Tübingen 1888. Zeitschr. f. wiss. Mikroskopie 1889, Bd. VI, p. 245.)
- Koch, L., I. Untersuchungen über die bisher für Öl oder Phloroglucin gehaltenen Inhaltskörper der Fucaceen. (Diss. Rostock 1896.)
- Kohl, F., I. Untersuchungen über das Carotin usw. Leipzig 1902.
- Kolkwitz, R., I. Beitr. z. Biologie d. Florideen. (Wiss. Meeresunters. N. F., Bd. IV, Abt. Helgoland, Heft 1, 1900.)
- Kozłowski, A., I. Sur l'origine des oléolomites chez les hépatiques à lentilles. (Compt. rend. 1921, Bd. CLXXIII, p. 497—499.)
- Krasser, F., I. Neue Methoden z. dauerhaften Präparation d. Aleuron u. seiner Einschlüsse. (Bot. Zbl. 1891, Bd. XLVIII, p. 282.)
- Klaus, G., I. Über Eiweißkristalloide i. d. Epidermis von *Polypodium heoides*. (Jahrb. f. wiss. Bot. 1872, Bd. VIII, p. 426.)



- Krueh, O., I. Sui crystalloidi della Phytolacca abyssinica. (Atti R. Accad. dei Lincei. Ser. 5, Rendiconti 1896. Vol. V, fasc. 9, p. 364.)
- Kuckuck, P., I. Beitr. z. Kenntn. d. Ectocarpus-Arten d. Kieler Föhrde. (Bot. Zbl. 1891, Bd. XLVIII.)
- Küster, W. v., I. Die Ölkörper der Lebermoose. (Diss. Basel 1894. Refer. Bot. Zbl. 1895, Bd. LXII, p. 111.)
- Kylin, H., I. Zur Biochemie d. Moeresalgen. (Ztschr. f. physiol. Chemie 1918, Bd. LXXXIII, Heft 8.)
- , II. Über die Inhaltskörper der Fucoiden. (Arkiv för Botanik utgivet af K. Svenska Vetenskapsakademien i Stockholm, 1912, Bd. XI, Nr. 5.)
- Leitgeb, H., I. Kristalloide in Zellkernen. (Mitt. a. d. bot. Instit. z. Graz. Jena 1888, p. 113.)
- , II. Über Sphärite. (Ebenda p. 315.)
- Lemmermann, E., I. Beitr. z. Kenntn. d. Planktonalgen. (Ber. d. Deutsch. bot. Ges. 1900, Bd. XVIII.)
- Lidforss, B., I. Über eigenartige Inhaltskörper bei Potamogeton pectengus. (Bot. Zbl. 1898, Bd. LXXIV, p. 305.)
- , II. Studien öfver alacoserer i örtbladens mesophyll och epidermis. (Diss. Lund 1893 u. Königl. Fysiogr. Sällskapets i Lund Handlingar, Bd. IV.)
- Loew, O., und Bokorny, Th., I. Zur Chemie d. Proteosomen. (Flora 1892, Bd. LXXVI, Ergänzungsband zu 1892, p. 117.)
- , —, II. Die chemische Kraftquelle i. lebend. Protoplasma. München 1882
- Loew, O., I. Die chemische Energie d. lebenden Zellen. Stuttgart 1906, 2 Aufl.
- Lohmann, I. Beitr. z. Chemie u. Biologie der Lebermoose. (Beih. z. Bot. Zbl., 1903, Bd. XXV, p. 215.)
- Ludtke, F., I. Beitr. z. Kenntn. d. Aleuronkörner. (Jahrb. f. wiss. Bot., Bd. XXI, p. 62.)
- Lundström, A. N., I. Über farblose Öplastiden u. d. biolog. Bedeutung d. Öltröpfen gewisser Potamogeton-Arten. (Bot. Zbl., Bd. XXXV, p. 177.)
- Macquenne, J., I. Bull. de la Soc. chim. 1906 (3), T. XX XV, I. XV. Annal. d. Chim. et de Phys. 1906 (8), T. IX, p. 179—220.
- Meyer, A., I. Das Chlorophyllkorn usw. (Leipzig 1883. Refer. Zeitschr. f. wiss. Mikroskopie, Bd. I, p. 302.)
- , II. Über Kristalloide d. Thophloblasten usw. (Bot. Ztg. 1883, p. 489.)
- , III. Untersuchungen über d. Stärkekörner. Jena 1895.
- , IV. Über Stärkekörner, welche sich mit Jod rot färben. (Ber. d. Deutsch. bot. Ges. 1886, Bd. IV, p. 337.)
- , V. Orientierende Untersuchungen über die Verbreitung, Morphologie und Chemie des Volutins. (Bot. Ztg. 1904, p. 113.)
- , VI. Die Zelle der Bakterien. Jena 1912, p. 238.
- , VII. Morphologische u. physiologische Analyse der Zelle bei Pflanzen u. Tieren. I. T. Jena 1920.
- Meyer, H., I. Untersuch. über einige Flagellaten. Diss. Basel 1897.
- Mikoseh, K., I. Über ein neues Vorkommen geformten Eiweißes. (Ber. d. Deutsch. bot. Ges., Bd. VIII, p. 23.)
- Mohl, H. v., I. Über den Bau d. Chlorophylls. (Bot. Ztg. 1855, p. 110.)
- Molisch, H., I. Über Zellkerne besonderer Art. (Bot. Ztg. 1899.)
- , II. Studien über d. Milchsäure u. Schleimsäure d. Pflanzen. Jena 1901.
- , III. Über merkwürdig geformte Proteinkörper i. d. Zweigen von Epiphyllum. (Ber. d. Deutsch. bot. Ges. 1885, Bd. III, p. 195.)
- , IV. Bemerkung zu J. H. Wackers Arbeit. (Ebenda 1891, p. 270.)

- Monteverde, I. Über die Ablagerung von Calcium- und Magnesium-Oxalat i. d. Pflanze. Petersburg 1880. C. 43, 317.
- Mrazek, A., I. Über geformte eiweißartige Inhaltskörper bei d. Leguminosen. (Österr. bot. Zeitschr. 1910, Jahrg. 60, p. 198.)
- Naegeli, C. v., I. Die Stärkekörner 1858, p. 400.
- Naumann, E., I. Om jodfenol som mikrokemiskt reagens. (Botan. Notiser 1917, p. 197.)
- Nostler, A., I. Myelin und Eiweißkristalle i. d. Frucht von *Capsicum annuum* L. (Sitzungsber. d. Kais. Akad. d. Wiss. in Wien 1906, Bd. CXV, Abt. I.)
- Noll, F., I. Eau de Javelle, ein Aufhellungs- und Lösungsmittel f. Plasma. (Bot. Zbl. 1886, Bd. XXI, p. 877.)
- Oltmanns, T., I. Morphologie u. Biologie d. Algen. Jena 1905, Bd. II, p. 149.
- Overton, E., I. Beitr. z. Histologie u. Physiologie d. Characeen. (Bot. Zbl. 1890, Bd. XLIV, p. 5.)
- , II. Beitr. z. Kenntnis d. Gattung *Volvox*. (Ebenda 1889, Bd. XXXIX, p. 148.)
- Pfeffer, W., I. Untersuchungen über d. Proteinkörner usw. (Jahrb. f. wiss. Bot. 1872, Bd. VIII, p. 429.)
- , II. Die Ölkörper d. Lebermoose. (Flora 1874, p. 2.)
- , III. Loew und Bokorny's Silberreduktion in Pflanzenzellen. (Flora 1889, Jahrg. 72, p. 46.)
- Politis, I. Sugli Elaioplasti nelle Mono- e Dicotyledoni. (Atti delle Reale Acad. dei Lincei. 1911, Bd. XX, p. 599.)
- Poulsen, V. A., I. Note sur la préparation des grains d'aleurone. (Revue gén. d. Bot. 1890, p. 547.)
- Pringsheim, N., I. Monatsber. d. Berliner Akad. d. Wissensch. März 1855. (Vaucheria)
- , II. Über Zellulinkörner, eine Modifikation d. Zellulose i. Körnerform. (Ber. d. Deutsch. bot. Ges. 1883, Bd. I, p. 288.)
- , III. Über Lichtwirkung u. Chlorophyllfunktion i. d. Pflanze. (Jahrb. f. wiss. Bot. 1879—1881, Bd. XII, p. 354.)
- Radtko, L., f. Über Kristalle proteinstartiger Körper pflanzl. u. tier. Ursprungs. Leipzig 1859.
- , II. Zur Klärung von *Theophrasta* usw. (Sitzungsber. d. k. bayr. Akad. d. Wiss. in München, 1889, Bd. XIX, p. 221.)
- , III. Über die Gliederung der Familie der Sapindaceen. (Ebenda 1890, Bd. XX, p. 106.)
- Rachborski, M., I. Über die Entwicklungsgeschichte der Elaioplasten d. Liliaceen. (Anzeig. d. Akad. d. Wiss. in Krakau 1893, p. 259.)
- , II. Flora, 1897, Bd. LXXXIII, p. 76.
- Raunkjær, E., I. Cellekjerne krystalloider hos *Stylidium* og *Aeschynanthus*. (Botan. Tidskr. 1887, Bd. XVI, p. 41.)
- , II. Om Krystalloider i cellekjerne hos *Pyrolaceae*. (Vidensk. Meddel. f. d. nat. forening i Kjøbenhavn 1882, p. 70.)
- Reinke, J., und Rodewald, H., I. Die chem. Zusammensetzung des Protoplasmas von *Aethalum septentrionale*. (Unters. a. d. botan. Laborat. d. Univ. Göttingen, Berlin 1881, Heft 1.)
- Reinke, J., I. Beitr. z. Kenntnis der Tange. (Jahrb. f. wiss. Bot. 1876, Bd. X.)
- Rosanoff, I. Observations sur les fonctions et les propriétés des pigments de divers algues. (Extr. des Mémoires de la Soc. imp. d. sc. nat. d. Cherbourg, 1868, T. XIII.)
- Russow, I. Dorpat. Naturforsch. Ges. Okt. 1880.

- Sachs, J., I. Ein Beitrag z. Kenntnis d. Ernährungstätigkeit d. Blätter. (Würzburger Arbeiten, Bd. III, p. 1.)
- Schaar, F., I. Die Reservestoffbehälter d. Knospen von *Fraxinus excelsior*. (Sitzungsber. d. Kais. Akad. d. Wiss. in Wien 1890, Bd. XCIX, p. 291.)
- Schaarschmidt, J., I. Zellhautverdickungen u. Zellulinkörper bei den Vaucheria u. Chara. (Justs bot. Jahrb. 1884, Jahrg. 12, p. 220; 1885, Jahrg. 13, p. 389.)
- Schenk, H., I. Untersuch. über d. Bildung zentrifugaler Wandverdickungen. Diss. Bonn 1884.
- Schorffol, A., I. Notizen zur Kenntnis der Chrysomonadaceae. (Ber. d. Deutsch. bot. Ges. 1904, p. 443.)
- , II. Algologische Notizen. (Ebenda 1907, p. 228.)
- Schimper, A. F. W., I. Untersuchungen über die Proteinkristalloide d. Pflanzen. (Diss. Straßburg 1878. Refer. Justs bot. Jahrb. 1878.)
- , II. Untersuchungen über d. Chlorophyllkörper u. die ihnen homologen Gebilde. (Jahrb. f. wiss. Bot. 1885, Bd. XVI.)
- , III. Über Bildung u. Wanderung d. Kohlehydrate i. d. Laubblättern. (Bot. Ztg. 1885, Jahrg. 43, p. 789.)
- Schmitz, F., I. Die Chromatophoren d. Algen. Bonn 1882.
- Schütt, F., I. Über Organisationsverhältnisse d. Plasmaleibes d. Peridineen. (Sitzungsber. d. K. Akad. d. Wiss. z. Berlin 1892, p. 377.)
- Sertorius, A., I. Beitr. z. Kenntn. d. Anatomie der Cornaceae. (Bull. d. l'Herb. Boissier 1893, T. I, p. 469.)
- Shimoyama, I. Beitr. z. Kenntn. d. japan. Klebreises, Mozigome. Diss. Straßburg 1886.
- Solereder, H., I. Studium über die Tribus d. Gaertnereen. (Ber. d. Deutschen bot. Ges. 1890, p. 71.)
- Solla, R. F., I. Über Eiweißkristalloide in den Zellkernen von *Albua*. (Österr. Bot. Ztschr. 1920, p. 110.)
- Sperlich, A., I. Die Zellkeinkristalloide von *Alectorolophus*. (Beih. z. Bot. Zbl. 1906, Bd. XXI.)
- Stahl, E., I. Pflanzen und Schnecken. Jena 1888, p. 49.
- Staritz, I. Über einen neuen Inhaltskörper d. Sieböhren einiger Leguminosen (Festschr. z. 250jähr. Jubiläum d. Gymn. z. St. Magdalena i. Brestau 1893.)
- Stock, G., I. Ein Beitrag z. Kenntn. d. Proteinkristalle. (Conns Berl. z. Biologie d. Pflanzen 1893, Bd. VI, p. 213.)
- Strasburger, E., I. Botan. Praktikum. 3. Aufl. Jena 1897, p. 98.
- , II. Schwärmsporen, Gameten usw. (Histol. Beitr. Heft 4, p. 47.)
- Tieghe, v., I. Note sur les globules amylacées des Floridées et des Corallinées. (Ann. d. science. nat. bot. 1865, sér. 5, T. III, p. 315.)
- Tschirch, A., und Kritzler, H., I. Mikrochem. Untersuch. u. d. Alenonkörper. (Ber. d. deutsch. pharm. Ges. Berlin 1900, Jahrg. 10, p. 214.)
- Vines, de, I. On the chemical composition of Alenon. (Grains, Proc. Roy. Soc. Vol. XXVIII, XXX, XXXI.)
- Vogl, A., I. Beitr. z. Kenntn. d. Milchsaftorgane der Pflanzen. (Jahrb. f. wiss. Bot. 1866, Bd. V, p. 81.)
- Vries, H. de, I. Über die Aggregation im Protoplasma von *Drosera rotundifolia*. (Bot. Ztg. 1886, p. 1.)
- Wakker, J. H., I. Studien über die Inhaltskörper d. Pflanzenzelle. (Jahrb. f. wiss. Bot. 1888, Bd. XIX.)
- , II. Ein neuer Inhaltskörper d. Pflanzenzelle. (Ebenda Bd. XXIII.)

- Wallin, G. S., I. Über gerbstoffähnliche Tröpfchen im Zellsafte der Bromeliaceenblätter. (Bot. Zbl. 1898, Bd. LXXV, p. 323.)
- Weber van Bosse, I. Études sur les Alges de l'Archipel Malaisien II. (Ann. d. jard. bot. d. Buitenzorg. Vol. VIII, p. 165.)
- Werminski, F., I. Über die Natur der Aleuronkörner. (Ber. d. Deutsch. bot. Ges. 1888, Bd. VI, p. 199.)
- Wiesner, J., I. Die Rohstoffe des Pflanzenreichs usw. 2. Aufl., 1900, Bd. I, p. 550.
- Wollenweber, W., I. Das Stigma von Haematococcus. (Ber. d. Deutsch. bot. Ges. 1907, Bd. XXV, p. 316; 1908, Bd. XXVI.)
- Zemplén, G., I. ABDEKHALDENS Biochem. Handlexikon. Berlin 1911, Bd. II, p. 114.
- Zikes, H., I. Beitr. z. Volutinorkommen in höheren Pilzen, speziell in Hefen. (Allg. Zeitschr. f. Bierbrauerei usw. 1922, p. 89.)
- Zimmermann, A., I. Über das funktionelle Verhalten der Zellkernkristalloide. (Zeitschr. f. wiss. Mikroskopie 1893, Bd. X, p. 211.)
- , II. Beitr. zur Morphologie u. Physiologie d. Pflanzenzelle. Tübingen 1893, Bd. I.
- , III. Die Morphologie u. Physiologie d. pflanzlichen Zellkerns. Jena 1896.
- , IV. Die botan. Mikrotechnik. Tübingen 1892.
- , V. Sammelreferate a. d. Gesamtgebiete d. Zellenlehre. (Beih. z. Bot. Zbl. 1894, Jahrg. 1, p. 90.)
- Zopf, I. Über einen neuen Inhaltkörper i. pflanzl. Zellen. (Ber. d. Deutsch. bot. Ges. 1887, Bd. V, p. 276.)

2378





## Autoren-Register.

### A.

Abderhalden 12. 106. 113. 137. 141. 142.  
152. 177.  
Abranovicz 400.  
Adami 122. 142.  
Albertus 183. 202.  
Albo 202. 293. 326.  
Altenburg 236. 238.  
Amadei 370. 407.  
Ambronn 82. 85. 349. 360.  
André 92. 98.  
Anema 289. 291 326.  
Araki 341.  
Arnaud 90 98.  
Arnoldt 206.  
Aschoff 122. 142.

### B.

Babikoff 190. 202  
Babiy 86 98.  
Baccarini 240. 279. 370. 407.  
Bach 319. 326.  
Bachmann 206. 212. 217. 279.  
Baeyer 134. 142.  
Baldasseroni 96. 98.  
Bambecke 368. 407.  
Bamberger 168. 177.  
Banger 199. 202.  
Barth 288. 289. 301. 302. 303. 308. 326.  
Bary, de 54. 123. 128 129. 142. 341. 350.  
360.  
Bauer 306. 326.  
Baylei 371.  
Behrens, H. 4. 12. 14. 28. 36. 44. 45. 47.  
58. 60. 61. 64. 67. 72. 76. 86. 98. 107.  
109. 114. 142. 154. 177. 288. 291. 300.  
326.  
Behrens, J. 160. 177.  
Behrens, W. 12. 22. 36.

Beljorinek 95. 98. 241. 244. 245. 246. 279.  
280.  
Beilstein 172. 177.  
Bölohoubek 359. 360.  
Belzung 56. 63. 98. 388. 407.  
Bencko 50. 98.  
Bencko 121. 142.  
Bensley 72. 98.  
Bergmann 109. 142.  
Bersa 53. 98.  
Bertel 152. 153. 177.  
Berthelot 92. 98.  
Berthold 371. 391. 392. 400. 401. 407  
Best 142.  
Biedermann 319. 326. 386 407.  
Blasdale 128. 142.  
Blau 308. 327.  
Blank 274. 280  
Boedecker 305 327.  
Böhm 57. 98. 382 407.  
Boehmer 20.  
Bonningh 201  
Boguslawsky 190 202.  
Bokorny 173 179. 315 328 405. 406  
407. 410.  
Boesch 360. 399. 400. 407.  
Bořický 36.  
Borodin 24. 36. 82. 105. 114. 116 142.  
150 151. 177. 184. 202 247. 250 280  
382. 408.  
Boršow 149. 177. 182. 191. 192 202.  
231. 280. 309. 327.  
Bozi 367. 408.  
Bourcet 86. 98.  
Brach 341.  
Braemer 174. 177.  
Brandstetter 294. 327.  
Brandt 202. 327.  
Braun 149. 164. 177. 178.

Briosi 382, 408.  
 Brissemeret 163, 164, 178.  
 Brückle 121, 142.  
 Bruns 388, 408.  
 Brunswik 54, 83, 98, 126, 127, 142, 183,  
 184, 193, 196, 203, 325, 327, 342, 360.  
 Burgerston 344, 347, 360.  
 Buscalioni 119, 142, 270, 280.  
 Busch 90, 98.  
 Busse 161, 178.  
 Bütschli 222.

## C.

Cabannes 203.  
 Cadot 310, 327.  
 Carlo 80, 98.  
 Caspary 346, 360.  
 Cazeneuve 147, 178.  
 Chevreul 347, 360.  
 Chmielewski 381, 408.  
 Chodat 319, 326.  
 Classen 20, 36, 142.  
 Clantin 139, 142, 286—291, 298, 299,  
 301, 304, 308, 311, 313, 327.  
 Cohn 68, 77, 98, 376, 408.  
 Combes 163, 164, 178, 280.  
 Correns 153, 273, 280, 338, 349, 360.  
 Corsini 68, 98.  
 Corti 376.  
 Counelle 56, 99.  
 Couchet 255, 271, 280.  
 Cramer 68, 98.  
 Cato 391, 392, 408.  
 Cré 340, 360.  
 Crombie 206.  
 Cunge 20, 36, 75, 77, 79, 98.  
 Czapek 8, 12, 36, 63, 90, 98, 106, 108,  
 111, 121, 123, 131, 132, 135, 142, 143,  
 150, 159, 161, 176, 178, 216, 236, 258,  
 280, 320, 340, 345, 346, 360.

## D.

Dafert 358—360.  
 Darwin 406, 408.  
 Danbe 276, 280.  
 Decaisne 236, 280.  
 De Candolle 111.  
 Decker 275, 280.  
 Dekker 172, 178.  
 Delafield 22.  
 Dennert 271, 280.

Devaux 355, 360.  
 Dischendorfer 336, 360.  
 Dohrn 153, 155, 178.  
 Donau 12.  
 Dragondorff, 292.  
 Droog 313, 327.  
 Dufour 174, 178, 199, 203, 366, 370, 404.

## E.

Ebermayer 66, 98.  
 Eder 80, 31, 36, 288, 327.  
 Ehrlich 28, 239, 280.  
 Eichler 106.  
 Elstrand 301, 327.  
 Ellram 90, 98.  
 Emich 4, 13, 26, 27, 32, 36, 114, 143.  
 Engelmann 93, 97, 99.  
 Ensich 139, 143.  
 Eriksson 238, 280.  
 Einest 108, 145.  
 Elera 137, 139, 143, 286, 287, 288, 290,  
 304, 308, 313, 327.  
 Eto 88, 104.  
 Euler 13, 92, 99.

## F.

Faber 401, 408.  
 Falis 12, 36.  
 Feldhaus 291, 327.  
 Feller 403, 408.  
 Fidor 367, 408.  
 Fischer, A. 54, 69, 99, 131, 138, 139, 140,  
 143, 153, 398, 404.  
 Fischer, E. 129, 132, 143, 309.  
 Fischer, H. 137, 143.  
 Flückiger 149, 178.  
 Fluri 46, 99.  
 Forsell 206.  
 Franchmont 169, 178.  
 Frank 88, 90, 99, 254.  
 Francé 401, 402, 408.  
 Friemy 350, 395.  
 Fresenius 19, 36, 99.  
 Fribourg 108.  
 Fritsch 171, 178.  
 Fuchs-Brauns 35, 36.  
 Fünfstock 164, 178, 217, 280.  
 Fürth, v. 13, 117.

## G.

Gaidukov 257, 280.  
 Gardiner 174, 178, 369, 405.

Garjoanne 897. 408.  
 Gautier 86. 99.  
 Geneau de Lamarlière 159. 178. 351. 360.  
 Gerdtz 358.  
 Geroock 301. 803. 327.  
 Gertz 340. 341. 360.  
 Gieckhorn 69. 99. 369. 370. 372. 408.  
 Gießler 111. 148.  
 Gilson 48. 99. 837. 841. 847. 361.  
 Giltay 21. 36. 837. 861.  
 Gjokič 846. 361.  
 Gnezda 239. 280.  
 Godlewski 882. 883. 408.  
 Goebel 176. 178.  
 Goeppert 376. 408.  
 GÜßL 46. 47. 99.  
 Gola 69. 99.  
 Goldschmidt 227. 280. 281.  
 Golenkin 88. 99. 899. 408.  
 Gordin 306. 327.  
 Gottlieb 890. 408.  
 Gottsche 897.  
 Grafe 8. 13. 86. 184. 148. 169. 170. 178.  
 191. 265. 280. 322. 327. 338. 346. 352. 361.  
 Green 136. 143.  
 Greshoff 8. 86. 193. 203.  
 Grimme 404. 409.  
 Grob 81. 99.  
 Größ 818. 320. 322. 323. 327.  
 Grottorink 286. 807. 327. 328.  
 Guérin 295. 328.  
 Guignard 187. 196. 197. 203. 323. 324.  
 325. 328.  
 Guy 28. 86

## II.

Ilaarmann 346. 363.  
 Haberlandt 78. 99. 200. 203.  
 Haenlein 56. 99.  
 Hanausek, T. 8. 86. 149. 178. 189. 198.  
 203. 275. 310. 328. 358. 359. 361.  
 Hansson 55. 56. 99. 247. 271. 280. 388.  
 391. 392. 399. 408.  
 Hansgirt 380. 408.  
 Hansteen 57. 99. 391. 392. 408.  
 Hansteen Cranner 385. 361.  
 Hanstein 169. 178. 356.  
 Harmand 206.  
 Harries 170.  
 Hartig 20. 86. 115. 116. 143. 816. 328.  
 372. 409.

Hartwich 120. 143. 147. 149. 178. 238.  
 239. 273. 274. 280. 358.  
 Harvey-Gibson 117. 143.  
 Haiz 201. 203.  
 Hassack 270. 280.  
 Haushofer 36. 48. 74. 76. 82. 99. 107. 108.  
 143. 154. 178.  
 Heckel 286.  
 Hegler 139. 143. 343. 344. 345. 361. 371.  
 402. 409.  
 Heinricher 78. 99. 203. 299. 323. 324.  
 328. 339. 361. 365. 370. 371. 372. 387.  
 409.  
 Helwig 28. 36. 37.  
 Henckel 389. 409.  
 Herder 328.  
 Herrmann 163. 178. 201. 203. 224. 226.  
 231. 276. 280. 305. 306. 328.  
 Herzig 225.  
 Hesso 205. 206. 213. 239. 280.  
 Heyl 158. 178.  
 Hiepe 231. 288.  
 Hieronymus 381. 399. 109  
 Hilger 106.  
 Hinze 69. 99.  
 Hühnel, v. 8. 16. 37. 148. 178. 190. 191.  
 203. 845. 347—350. 361. 370. 409  
 Hof 28. 37.  
 Hoffmeister 131. 132. 143.  
 Hofstetter 177. 180.  
 Holle 372. 382. 409.  
 Holmes 238. 280.  
 Holzner 51. 99.  
 Hoppe-Seyler 96. 99. 131. 143. 217. 219  
 Hue 206.  
 Hugonnet 147. 178.  
 Huie 368. 409.  
 Husemann 106.

## I.

Ihl 345. 361.  
 Iltis 171. 179. 255.  
 Ivonne 341.  
 Iwanoff 71. 99. 341.

## J.

Jacquemin 287. 295. 328.  
 Janson 201. 208. 407. 409.  
 Jatta 206.  
 Johnson 69. 99.  
 Joachimovitz 147—149. 179.

Johannsen 325. 328.  
 Jong 197. 203.  
 Jung 82. 83. 84. 100.  
 Justus 85. 86. 100.

## K.

Kärner 74. 100.  
 Kallen 367. 405. 409.  
 Kappon 212.  
 Karzel 270. 280.  
 Kayser 275. 280.  
 Korner, v. 78. 100.  
 Kisser 50.  
 Klason 346. 361.  
 Klebahn 69. 100. 381. 409.  
 Klebs 259. 281. 328. 361. 381. 390. 398.  
 402. 409.  
 Klein, G. 225. 271. 272. 275. 277. 281.  
 343. 361.  
 Klein, J. 366. 367. 371. 406.  
 Klein, R. 89. 91. 92. 100. 301. 328.  
 Klément 36.  
 Klemm 405. 406. 407. 409.  
 Klercker 173. 174. 175. 179. 400. 406.  
 Kley 12.  
 Klotsch 128. 129. 143.  
 Knoll 120. 396.  
 Knuth 134. 143.  
 Kny 21. 37. 97. 100.  
 Kobert 197.  
 Koch 409.  
 Koerber 206.  
 Kohl 50. 53. 57. 76. 77. 78. 80. 100. 139.  
 255. 258. 281. 343. 361. 402. 409.  
 Koernicke 13.  
 Kofler 19. 179.  
 Kolderup-Rosenvinge 56. 100.  
 Kolkwitz 87. 88. 100. 384. 389. 409.  
 Kolpin Ravn 81. 100.  
 Koninck, de 61. 100.  
 Kosmann 143. 155.  
 Kozlowski 199. 203. 398. 410.  
 Krabbe 318. 328.  
 Krasser 21. 37. 163. 215. 281. 314. 315.  
 328. 378. 374. 406.  
 Kratzmann 44. 45. 46. 100.  
 Kretz 117. 143.  
 Kraus 27. 37. 135. 143. 247. 371. 409.  
 Kritzler 374. 410.  
 Kroemer 143. 351. 361.  
 Krueh 371. 410.

Kuckuck 391. 410.  
 Kügler 347. 361.  
 Kilster 76. 100. 398. 410.  
 Kylin 58. 66. 88. 100. 256. 258. 262. 263.  
 281. 354. 361. 389. 392. 393. 410.

## L.

Ladenburg 81. 100. 291.  
 Lafon 198.  
 Lange 81. 100.  
 Lenke 246. 281.  
 Léger 231.  
 Lohmann 240. 281.  
 Loighton 206.  
 Loitgeb 56. 100. 115. 136. 143. 179.  
 366. 368. 370. 410.  
 Lemmermann 410.  
 Liebaldt 251. 281.  
 Liebig 63.  
 Liesegang 6. 37.  
 Ladfors 162. 176. 179. 399. 410.  
 Lilienfeld 71. 72. 100.  
 Lindt 147. 148. 179. 301. 302. 328.  
 Linné 8.  
 Linsbauer, K. 78. 101. 131. 144. 170.  
 179. 346. 362. 400.  
 Lantner 320. 328.  
 Lloyd 224.  
 Loew 50. 101. 113. 144. 173. 179. 315.  
 328. 405. 406. 410.  
 Lohmann 398. 410.  
 Lomann 88. 101.  
 Lotsy 300. 329.  
 Lubarsch 139. 144.  
 Ludecke 210.  
 Lüdtko 373. 410.  
 Lundström 162. 179. 399. 410.  
 Lutz 325. 329.

## M.

Macallum 43. 62. 63. 72. 83. 101.  
 MacDougal 127. 144.  
 Maistran 287. 288. 304. 308. 318.  
 Mandolin 203.  
 Manca 176. 179.  
 Mangin 19. 37. 57. 101. 337. 352. 353.  
 354. 355. 356. 357. 362.  
 Maquenne 386. 410.  
 Marchlowski 247. 281.  
 Marpmann 176. 179.  
 Mazurkiewicz 166. 179.



Mattiolo 845. 362.  
 Mäule 844. 362.  
 Maxwell 94.  
 Mayer P. 22.  
 Melnikoff 101.  
 Menten 101.  
 Merck 87.  
 Mesnard 166. 179.  
 Mottenius 79.  
 Metz 171. 179.  
 Meyer, A. 8. 19. 84. 87. 124. 181. 182.  
     189. 144. 166. 179. 249. 281. 317. 318.  
     329. 372. 378. 381. 382. 383. 384. 386. 387.  
     388. 397. 398. 403. 404. 410.  
 Meyer, E. 41. 101.  
 Meyer, II. 18. 144. 393. 410.  
 Ming 252. 282.  
 Miklausz 358. 359.  
 Mikosch 124. 144. 165. 170. 179. 315.  
     326. 370. 371. 410.  
 Miliarakis 75. 101.  
 Millon 21. 315.  
 Mirande 388. 357. 362.  
 Mitlachor 29. 37. 230. 281. 281.  
 Moebius 81. 101. 124. 144. 270. 279. 281.  
 Moeller, J. 8.  
 Moeller, II. 173. 179.  
 Mohl, v. 79. 101. 382. 410.  
 Molisch 4. 6. 8. 9. 12. 13. 87. 41. 43.  
     44. 47. 50. 53. 58. 60. 69. 79. 80. 81.  
     84. 88. 92. 95. 96. 97. 101. 102. 106. 110.  
     111. 119. 120. 121. 122. 130. 136. 142.  
     144. 146. 149. 156. 161. 162. 170. 171.  
     179. 180. 183. 191. 199. 200. 203. 204.  
     221. 222. 224. 227. 228. 232. 233. 234.  
     241—246. 253. 254. 255. 256. 257. 258.  
     259—264. 265. 267. 268. 275. 277.  
     278. 281. 282. 287. 289. 290. 296. 299.  
     310. 311. 317. 320. 321. 322. 329. 336.  
     345. 346. 350. 353. 359. 362. 368—372.  
     374. 376. 410.  
 Moll 37. 173. 180.  
 Molle 287. 290. 291. 293. 313. 329.  
 Monteverde 55. 56. 60. 92. 102. 105. 144.  
     247. 399. 411.  
 Monti 71. 72. 100.  
 Moore 358. 362.  
 Mrzcek 367. 371. 411.  
 Müller, C. 41. 44. 102.  
 Müller C. O. 115. 144.  
 Müller, II. 126. 144.

Müller, II. 242. 282.  
 Müller, II. C. 52. 102.  
 Müller, J. 206.  
 Müller, J. N. C. 168. 180. 206.  
 Müller, K. 144.  
 Mylius 27.

## N.

Nadelmann 62.  
 Nadson 220. 282.  
 Nägeli, v. 265. 273. 282. 382. 411.  
 Nasse 315. 329.  
 Nathanson 69. 102.  
 Naumann 10. 37. 76. 102. 387. 411.  
 Nessler 19.  
 Nestler 8. 28. 29. 37. 63. 102. 121. 122.  
     125. 126. 127. 144. 145. 154. 156. 162.  
     180. 242. 282. 288. 310. 329. 353. 362.  
     371. 411.  
 Netolitzky 11. 51. 78. 102. 149. 180.  
 Neubauer 120.  
 Neumann 240. 278.  
 Nickel 21. 37. 66. 102. 174. 180. 329.  
     345. 362.  
 Niggl 344. 362.  
 Noll 387. 411.  
 Norton 238. 282.  
 Nowopokrowsky 19. 37. 336. 362.

## O.

Oesterle 231. 232. 282. 289. 301. 327.  
 Olivier 206.  
 Olmanns 389. 411.  
 Osterhout 65. 103.  
 Overton 174. 180. 265. 282. 373. 377.  
     381. 401. 411.

## P.

Padé 90. 98.  
 Palladin 319. 329.  
 Paterno 205.  
 Patschovsky 111. 145.  
 Pawlowski 320. 329.  
 Payen 57. 103.  
 Peeche 194. 195. 204. 324. 326. 329.  
 Pedersen 232. 234. 282.  
 Peklo 47. 103.  
 Pellet 103.  
 Perrot 180.  
 Pfeiffer 26. 37. 103. 113. 115. 145. 175.  
     180. 184. 185. 204. 372. 373. 374. 397.  
     398. 405. 406. 411.

Pfister 358.  
 Pierre 68, 103.  
 Pichard 46, 103.  
 Pictet 285, 329.  
 Plant 349, 362.  
 Pohl 321, 329.  
 Polacco 281, 283.  
 Politis 397, 411.  
 Polacci 72, 103, 270, 277.  
 Portheim, v. 282.  
 Poulsen 13, 373, 411.  
 Pozzi-Essot 288, 329.  
 Prabl 353, 359, 362.  
 Pranti 136, 145, 271, 282.  
 Pregl 31, 37.  
 Ptingsheim 249, 282, 382, 394, 403, 411.  
 Priestley 349, 362.  
 Prüscher 201, 204.  
 Prollius 234, 283.  
 Pulitzer 238, 283.

## R.

Raciborski 69, 72, 103, 115, 145, 200, 201,  
 204, 317, 321, 322, 329, 366, 397, 411.  
 Racinski 190, 204.  
 Radtkofer 45, 46, 55, 103, 365, 367, 399,  
 403, 411.  
 Raspaul 314, 330.  
 Raunkjær 367, 411.  
 R6 56, 104.  
 Rognard 97, 103.  
 Reich 315, 330, 352, 363.  
 Reinhold 145.  
 Reimitzer 121, 145, 172, 180, 322, 330.  
 Reinke 365, 411.  
 Roess 339, 363.  
 Rénard 36.  
 Richter, K. 341, 363.  
 Richter, O. 4, 13, 37, 58—59, 65, 76,  
 81, 104, 338, 355, 363.  
 Rijn, van 182, 190, 203.  
 Robertson 88, 103.  
 Rochleder 8, 38.  
 Rodowald 365, 411.  
 Rodier 57, 103.  
 Röhrmann 320, 330.  
 Rosanoff 388, 411.  
 Rosenthaler 13, 80, 98, 193, 204.  
 Rosell 190, 197, 204, 276, 283, 295, 302,  
 306, 307, 330.  
 Rothert 45, 103, 255, 283.

Ruhomann 113.  
 Rumpf 351, 363.  
 Rumphius 46.  
 Rundquist 306, 309, 330.  
 Rupe 215, 283.  
 Russel 283, 313, 330.  
 Russow 366, 411.

## S.

Sachs 75, 131, 186, 145, 387, 412.  
 Sack 240, 283.  
 Sandstede 206.  
 Saito 163.  
 Sanio 173, 180, 199.  
 Schaar 367, 412.  
 Schaarschmidt 56, 103, 292, 330, 394,  
 395, 412.  
 Schell 192, 204.  
 Schellenberg 339, 347, 363.  
 Schenk 367, 412.  
 Scherfell 401, 412.  
 Schiff 38.  
 Schimper 19, 38, 49, 60, 61, 63, 64, 67, 71,  
 83, 84, 90, 92, 103, 113, 145, 149, 180,  
 255, 258, 283, 377, 378, 381, 387, 389,  
 412.  
 Schlockow 271, 283.  
 Schmidt, J. 304, 330.  
 Schmidt, v. 347, 363.  
 Schmied 256, 283.  
 Schmitz 380, 382, 389, 391, 412.  
 Schneider 345.  
 Schoenau 176, 180.  
 Scholl 282.  
 Sehtstehenback 84, 103.  
 Schüler 275, 283.  
 Schütt 259, 283, 399, 412.  
 Schulze 116, 145, 152, 180, 339, 363.  
 Shunk 216.  
 Schwabach 169, 180.  
 Schwarz 25, 38, 216, 283, 317, 330.  
 Schweidler 325, 330.  
 Schwendener 236, 265, 270, 273, 282.  
 Scott 72, 103.  
 Semmler 141, 145.  
 Senft 29, 38, 122, 133, 145, 157, 180,  
 208, 210, 211, 212, 213, 215, 283, 359,  
 363.  
 Sonn 399.  
 Sernander 120, 145.  
 Sertorius 399, 412.

Shimoyana 388. 412.  
 Shirasawa 167. 180.  
 Siim-Jensen 291. 330.  
 Simon 124. 145.  
 Singer 162. 180. 190. 345. 346. 363.  
 Skipparri 301. 303. 327.  
 Smith 46. 104.  
 Solereder 8. 38. 55. 81. 104. 171. 180. 325.  
     330. 399. 412.  
 Solla 142. 145. 368. 372. 412.  
 Soltsien 89. 104.  
 Sorby 247.  
 Spatzier 324. 325. 330.  
 Sperlich 175. 177. 180. 367. 372. 412.  
 Spieß, v. 270. 283.  
 Spitzer 320. 330.  
 Stähelin 177. 180.  
 Stahl 111. 145. 206. 283. 399. 412.  
 Staritz 412.  
 Steensma 241.  
 Stein 206.  
 Stock 370. 372. 412.  
 Stoklasa 108. 145.  
 Stoll 160. 161. 181. 284.  
 Strasburger 13. 20. 38. 363. 368. 373. 381.  
     412.  
 Strocker 228. 283.  
 Strong 38. 44.  
 Suzuki 93. 311. 330.  
 Sydow 206.  
 Szűcs 46. 104.

## T.

Tammes 8. 38. 254. 283.  
 Temme 353. 363.  
 Theorin 190. 204.  
 Thiele 153. 155. 178.  
 Thörner 221. 283.  
 Thoms 8. 38. 57. 104.  
 Tichomirow 149. 180.  
 Tieghem, van 274. 283. 371. 388. 412.  
 Tiemann 346. 363.  
 Tisza 284.  
 Tobler 355. 363.  
 Toni, de 290. 330.  
 Troub 193. 194. 195. 204.  
 Trier 285. 309. 331.  
 Trimble 224.  
 Trommer 131. 145.  
 Tschirch 8. 13. 38. 158. 166. 167. 168.  
     169. 170. 180. 181. 204. 231. 232. 247.

249. 254. 271. 283. 289. 301. 322. 330.  
 331. 350. 353. 355. 358. 359. 363.  
 Tswett 247. 255. 256. 283. 284.  
 Tunmann 8. 13. 28. 29. 38. 85. 86. 104.  
     106. 107. 119. 122. 124. 133. 136. 145.  
     153. 155—158. 163. 165. 169. 170. 181.  
     183. 185—188. 202. 204. 223. 235. 276.  
     284. 288. 300. 303. 306—308. 331.  
 Tutin 188. 206.

## U.

Udránsky 130. 145.  
 Uhlmann 120. 143.  
 Umlauf 145.  
 Unverdorben 169.

## V.

Vandollinden 205. 304. 331  
 Vator 55. 104.  
 Verschaffelt 239. 240. 284.  
 Viehoever 343. 363.  
 Vines 373. 412.  
 Virchow 121. 145.  
 Visser 91. 104.  
 Vogl, Aug. 8. 133. 145. 181. 183. 205. 236.  
     276. 284. 367. 412.  
 Vogl, A. 117. 133. 145.  
 Vogtherr 238. 284.  
 Voigt 140. 146.  
 Volkart 242. 284.  
 Votava 376. 377.  
 Vouk 342. 363.  
 Vries, de 406. 412.

## W.

Waage 148. 181. 198. 205.  
 Wainio 206.  
 Wakker 370. 371. 375. 382. 396. 397  
     398. 401. 412.  
 Walliczek 353. 363.  
 Wallin 403. 413.  
 Walter 177. 181.  
 Warming 80. 104.  
 Wasiczky 231. 284. 301. 303. 331.  
 Wassilieff 152. 181.  
 Weber van Bosse 393. 413.  
 Weehuizen 240. 241. 284.  
 Weevers 63. 64. 65. 66. 104. 182. 186.  
     188. 190. 205. 286. 331.  
 Wehmer 13. 106.  
 Wehnert 46. 104.

Woigert 265. 266. 284.  
 Woinschenk 32. 35. 38.  
 Weinziol, v. 147. 181.  
 Weiß 42. 104.  
 Werminski 375. 413.  
 Worthelm 140. 146.  
 Weselsky 146. 147. 181.  
 Westor 343. 363.  
 Wettstein, F. v. 343. 363.  
 Wettstein, R. v. 8. 38.  
 Wèvro 291. 317. 331.  
 Wheeler 363.  
 Wioner 43. 104.  
 Wiesner, v. 8. 9. 11. 13. 19. 20. 28. 33. 42.  
 73. 104. 123. 128. 146—148. 153. 157.  
 168. 181. 236. 258. 264. 265. 284. 322.  
 331. 344. 345. 352. 363. 364. 384. 413.  
 Wigand 148. 181. 266.  
 Wildemann 287. 313. 331.  
 Will 138. 353. 359. 363.  
 Willstätter 60. 104. 160. 161. 181. 247 bis  
 249. 251—253. 256. 257. 259. 264—266.  
 270. 284.  
 Wilschke 259. 284.  
 Wimmer 166. 181.  
 Winckel 147. 149. 178.  
 Winogradski 67. 68. 104.  
 Winterstein 285. 309. 331. 339. 341. 364.  
 Wissolmgh, v. 173—176. 181. 254. 255.  
 285. 340—343. 349. 350. 354. 364.

Witmann 292.  
 Wolfenstein 285.  
 Wollenweber 401. 413.  
 Wothschall 292. 293. 331.  
 Wuite 157. 181.  
 Wurster 320. 331.

## Y.

Yohuda 88. 104.

## Z.

Zacharias 44. 104. 316. 317. 331. 350.  
 364.  
 Zahlbruckner 206.  
 Zaleski 92.  
 Zeisel 156. 180. 347. 352. 364.  
 Zellner 8. 33. 107. 146. 220. 285.  
 Zemplén 342. 364. 386. 418.  
 Zempten 239. 285.  
 Zorner 227. 280.  
 Ziegenspeck 340. 364.  
 Zikes 138. 404. 413.  
 Zimmermann 13. 19. 38. 51. 56. 72. 78.  
 104. 114. 119. 146. 285. 305. 316. 331.  
 337. 349. 364. 366—368. 370. 371.  
 379. 381. 397. 401. 413.  
 Zopf 8. 38. 128. 129. 146. 205. 206. 210.  
 212—217. 220. 221. 285. 299. 300.  
 331. 396. 413.  
 Zukal 206.





## Sach-Register.

### A.

- Abies 109. 128. 169. 190. 370.  
Abrus 270.  
Abutilon 84.  
Acacia 271. 272.  
Acer 58. 66. 117. 388.  
Acetabularia 187.  
Acetylessigskurederivate 211.  
Achromatium 58.  
Achyranthes 265.  
Acolium 211.  
Aconitin 304.  
Aconitum 107. 122. 286. 304.  
Acorus 146. 160.  
Adiantum 366.  
Adlumia 300.  
Adoxa 255.  
Aeschynanthus 367.  
Aesculetin 187.  
Aesculin 187. 188.  
Aesculus 117. 164. 187.  
Aethalium 109. 366.  
Atherische Öle 165.  
Aethusa 107.  
Äthylechlorophyllid 348. 351.  
Agapanthus 368.  
Agaricaceae 368.  
Agaricus 107.  
Agave 56. 382. 397.  
Ageratum 6. 156.  
Aggregation 406. 407.  
Agrostemma 108.  
Agrostis 137.  
Airosomen 69.  
Alaunbaum 45.  
Albica 362. 397.  
Albumino 314.  
Aldehyde 158—161. 315.  
Aldohydrotropfen 162.  
Aleetoria 212.  
Aleetorialsäure 206. 207.  
Aleetorolophus 106. 367.  
Aletris 256.  
Alauren 118. 372.  
Alaurenkörner, blaue 270.  
Algin 354.  
Alkalische Reaktion, Nachweis der 27.  
— —, des Plasmas 25.  
— —, Zellkerns 25.  
Alicularia 398.  
Alizarin 236.  
Alkaloide 12. 285—313.  
— von Corydalis 299.  
— der Solaneen 290—293.  
— — Leguminosen 295.  
— — Loganiaceen 301.  
— — Papaveraceen 295.  
— — Rubiaceen 300.  
— — Ranunculaceen 304.  
— — Pningruppe 309.  
— — Senfamen 312.  
— — Narzissen 318.  
— — Orchideen 313.  
— des Milchsafes 295—299.  
— von Veratrum 309.  
Alkaloidgruppenreagentien 286—288.  
Alkanna 238. 239.  
Alkannin 9. 238.  
Alkanninlösung 21.  
Alkohole 105.  
Allantoin 117.  
Alliaria 141. 199.  
Allium 58. 65. 116. 140. 141. 368.  
Alloxan 317.  
Allylsulfid 140.  
Allylsenöl 142.  
Alizarin 214.  
Alnus 28. 66. 77.

- Alocasia* 84.  
*Aloë* 161. 231—234. 265. 350.  
*Aloëmodin* 229.  
*Aloin* 231—234.  
*Aluminium* 44.  
*Aluminiumchlorür* 19.  
*Amarantus* 90. 91. 265.  
*Amaryllidaceæ* 368. 370.  
*Ameisensäure* 107.  
*Aminosäuren* 113.  
*Ammobium* 359.  
*Ammonium* 65.  
*Ammoniumaluminiumfluorid* 45.  
*Ammoniummagnesiumphosphat* 70.  
*Ammoniumphosphomolybdat* 70.  
*Ammoniak* 65.  
*Ammonsalze* 66.  
*Amorpha* 242.  
*Amorphophallus* 368. 370.  
*Ampelopsis* 112. 265. 340.  
*Amygdalin* 192.  
*Amygdalus* 192.  
*Amyladextrin* 385.  
*Amyloid* 339.  
*Amylose* 385.  
*Amylomyein* 340.  
*Amylopektin* 386.  
*Amylozellulose* 386.  
*Anabaena* 363.  
*Anabaenase* 140.  
*Anabaenin* 139.  
*Anagallis* 267.  
*Anagyris* 295.  
*Anagyris* 295.  
*Ananas* 107. 112.  
*Analysator* 33.  
*Anchusa* 117.  
*Anemia* 368.  
*Anemone* 268.  
*Angiopleuris* 55. 56. 81.  
*Angosmarinde* 391.  
*Angiaecum* 156.  
*Anilinfarbstoffe* 26.  
*Anilinsulfat* 344.  
*Anionen* 67.  
*Anona* 53. 149.  
*Anthirrhinum* 267. 271. 272.  
*Anthochlor* 271—272.  
*Anthoceros* 379.  
*Anthocyan* 25. 264—270. 345.  
*Anthocyanidino* 264.  
*Anthophäin* 270. 271.  
*Anthoxanthin* 271.  
*Anthoxanthum* 156.  
*Antimonchlorür* 264.  
*Antipyrin* 405.  
*Anthracenderivate* 212. 229.  
*Anthrachinone* 230.  
*Anthurum* 184.  
*Apama* 81.  
*Apigoin* 226.  
*Apiin* 226.  
*Apium* 106. 107. 152.  
*Apocynum* 149.  
*Aquilegia* 267.  
*Araceæ* 193. 370.  
*Aibutin* 185.  
*Arelostaphylos* 185. 186.  
*Areca* 122.  
*Argemone* 299.  
*Aristolochia* 81. 340.  
*Archieia* 239.  
*Artemisia* 158.  
*Arthonia* 217. 219.  
*Arthoniaviolett* 217.  
*Arthrothamnus* 86.  
*Arum* 198. 279.  
*Arundo* 81.  
*Asa foetida* 153.  
*Asaron* 149.  
*Azurum* 149. 150.  
*Asche* 9.  
*Aschenbild* 9—11.  
*Asclepias* 242.  
*Ascobolus* 221.  
*Ascophyllum* 87.  
*Asparagin* 113. 117. 151.  
*Asparagus* 70.  
*Aspengillus* 69.  
*Asperula* 78. 156. 157. 237. 242.  
*Asphodelus* 69.  
*Aspicilla* 218.  
*Aspidium* 45. 120.  
*Assimilationsspektet* 383.  
*Aster* 267.  
*Astragalus* 367.  
*Atianerin* 208.  
*Atiansäure* 207.  
*Atriplex* 265.  
*Atropa* 111. 286. 290. 291.  
*Atropin* 290.  
*Aucuba* 326. 351.

Aufhellungsmethode 76.  
 Augenfleck 401.  
 Auslöschung 84.  
 Auslöschungsrichtung 85.  
 Auslöschungstiefe 85.  
 Auslöschungsstellung 84.  
 Avena 137.  
 Azolla 201.

## B.

Bacidia 218, 219.  
 Bacidigrün 218.  
 Bacterium 221.  
 — phosphoreum 95, 96.  
 Bactrospora 219.  
 Bacomyces 217.  
 Bakterienmethode 93.  
 Bakteriochlorin 221.  
 Bakteriopurpurin 221.  
 Balanophora 124.  
 Balanophorin 124.  
 Balsame 168.  
 Bambusa 77.  
 Bangia 87, 263.  
 Baptisia 192, 268, 295.  
 Baptisin 192.  
 Barosma 183.  
 Batrachospermum 263, 406.  
 Bechornerin 397.  
 Beggiatoa 68, 404.  
 Begonia 109, 110, 111, 267, 403.  
 Benzaldehyd 192.  
 Benzidinchlorhydrat 67.  
 Benzidinkupferacetat 196.  
 Benzochinon 115.  
 Benzoë 168.  
 Benzoësauro 153—155.  
 Berberin 304—307.  
 Berberis 304—306.  
 Bertholletia 374.  
 Beta 65.  
 Betula 66, 77, 155, 202.  
 Betulin 201, 202.  
 Betuloretinsäure 155.  
 Biatora 211, 212, 218, 359.  
 Bidens 359.  
 Bignonia 242, 367.  
 Bilimbia 218.  
 Biuretreaktion 315.  
 Bixa 273.  
 Bixin 273—274.

Blaustäure 192—197.  
 Blastoniasäure 212.  
 Blastenin 207.  
 Blutaugensalzprobe 41.  
 Blutprobe 96.  
 Boconia 297, 298.  
 Bonnomaisonia 88.  
 Borrage 117.  
 Boronins Methode 24.  
 Botryophora 137.  
 Brasilin 228.  
 Brasilin 228.  
 Brassica 25, 57, 65, 141, 162, 186, 312.  
 Braunalgen 256.  
 Brenner 16.  
 Bronzkatechin 346.  
 Bromus 199.  
 Brosimum 84, 375.  
 Broussonetia 171.  
 Brucein 90, 301, 302.  
 Brunfelsia 293.  
 Bryonia 199.  
 Bryopsis 338, 380, 381.  
 Buellia 219.  
 Bulbochaete 401.

## C.

Cactus 107.  
 Casiumalaun 44.  
 Caesalpinia 228.  
 Caladium 239, 240.  
 Calanthe 242, 244, 245.  
 Calathea 79.  
 Calamintha 183.  
 Calamagrostis 137.  
 Calceolaria 271.  
 Calcium 48.  
 Calciumpektat 58, 355.  
 Calciumtartrat 50.  
 Calendula 96.  
 Calicin 210.  
 Callisia 81.  
 Callithamnion 87.  
 Callopisina 213.  
 Callose 356—358.  
 Calluna 66, 185.  
 Callus 357.  
 Calomelanon 129.  
 Caltha 304.  
 Calycin 210.  
 Calycinsäure 205.

- Calyculum 211.  
 Calypogea 399.  
 Campanula 78. 84. 78. 366. 367.  
 Campanulaceen 9. 170. 367.  
 Campelia 81.  
 Canadabalsam 168.  
 Canadin 307.  
 Candellaria 210.  
 Candollea 366. 367.  
 Canna 378.  
 Canella 107.  
 Capparidaceen 3. 186.  
 Capparis 58. 226.  
 Capsaicin 121.  
 Capsella 90. 91. 141.  
 Capsicum 121. 350. 371.  
 Carex 279.  
 Carica 325.  
 Carotin 252.  
 Carotine 252—256 263.  
 Carotinartige Farbstoffe bei Pilzen 221.  
 Carotinkristalle 33.  
 Carthamus 271 272 359.  
 Cayna 164.  
 Caryophyllus 146.  
 Cassia 229. 231.  
 Catalpa 367.  
 Catasetum 313.  
 Catechuot 177.  
 Catocarpus 211.  
 Caulispa 338.  
 Cautormide 77. 79.  
 Cecropia 376.  
 Celastus 106.  
 Cellose 335.  
 Celtis 52. 53. 77. 239 241.  
 Cenehus 60.  
 Centaurea 199. 271.  
 Centropogon 84. 278.  
 Cephaelin 300. 301.  
 Cephaelis 238. 300.  
 Cephalaria 271.  
 Ceranium 87. 263.  
 Ceratonia 109. 149.  
 Ceratophyllum 201.  
 Ceratopteris 368.  
 Cerapterus 88.  
 Cereus 382.  
 Cerin 347.  
 Cerinsäurereaktion 348.  
 Cerinthe 58. 117. 378.  
 Ceroformiat 107.  
 Ceropogia 56.  
 Ceroxylon 123.  
 Cetaria 211. 343.  
 Cevalin 309.  
 Cevadillin 309.  
 Chamaedorea 77. 279.  
 Chara 54. 377. 394.  
 Chasmanthera 305.  
 Chavica 289.  
 Cheilanthes 128.  
 Cheiranthus 141. 226. 324.  
 Chelerythrin 297. 298.  
 Chelidonium 84. 296—299. 388.  
 Chemie und Verwandtschaft 8—12.  
 Chenopodium 91. 92. 117.  
 Chimaphila 149. 185.  
 Chinaret 177.  
 Chinin 300.  
 Chinolin 405.  
 Chinonartige Farbstoffe 221.  
 Chinone 162—166.  
 Chitin 9. 341—343.  
 Chitosan 342 343.  
 Chiococca 238.  
 Chlamydomonas 401.  
 Chlamydomonas 343.  
 Chlor 82.  
 Chloracemjod 19.  
 Chlorophyll 247—252.  
 Chlorophyllan 249. 263.  
 Chlorophyllase 218.  
 Chlorophyllkorn als Reduktionsorgan 161.  
 Chlorophytum 368.  
 Chloroplasten 377.  
 Chlorzinkjod 19.  
 Cholesterinreaktion, rote 240.  
 Chondria 87.  
 Chondrus 87 263.  
 Chromatophoren, Einschlüsse der 365.  
 377—388.  
 Chromoplasten 377.  
 Chromophyton 257.  
 Chromsäure 20.  
 — -Schwefelsäure 20.  
 Chrysin 226.  
 Chrysophansäure 229. 231.  
 Chrysophycin 213.  
 Chrysophenol 163.  
 Chrysothrix 210.  
 Chylocladia 400.



Cicer 111.  
 Cinchona 288, 289, 300.  
 Cinchonamin 90.  
 Cinchonidin 300.  
 Cinchonin 300.  
 Cinchotin 300.  
 Cineraria 57.  
 Cinnamomum 155, 160, 167.  
 Citrus 188, 184, 239, 240, 272.  
 Cladina 212.  
 Cladonia 212, 215, 219.  
 Cladophora 47, 249, 381.  
 Cladostephus 87.  
 Clematis 84, 198.  
 Clorodendron 367.  
 Olivia 277, 278, 313.  
 Closterium 43, 54, 386.  
 Cocain 294.  
 Cochlearia 141, 186.  
 Cocconels 47.  
 Cocconema 94.  
 Cocculus 306.  
 Cocos 107, 121, 122.  
 Codiaceen 371.  
 Coelocline 305.  
 Coelogyne 270.  
 Coffea 119, 238, 239, 240, 286, 310.  
 Coffein 405, 407.  
 Colchicin 308.  
 Colchicum 286, 308.  
 Colombowurzel 306.  
 Combretum 77, 198.  
 Conferva 401.  
 Coniferin 190, 191, 346.  
 Conin 289.  
 Conioctybe 205.  
 Conioctyshanio 205.  
 Conium 286, 289.  
 Convallaria 166.  
 Convolvulus 367.  
 Copal 168.  
 Copalvabalsam 168.  
 Copernicia 123.  
 Coptis 305.  
 Corallin 352.  
 Corallina 87.  
 Cordia 117.  
 Cordylone 137, 382.  
 Coreopsis 272.  
 Coriaryrtin 189.  
 Coriaria 189.

Cornus 265.  
 Coronilla 242.  
 Cortusa 127.  
 — -Gift 127.  
 Corydalin 299, 300.  
 Corydalis 299, 300.  
 Corypha 123.  
 Coscinium 305.  
 Cosmarium 54, 381.  
 Coloneaster 192, 193.  
 Cotylanthora 367.  
 Crataegus 192, 193.  
 Crocetin 275.  
 Crocin 274—276.  
 Crocus 271, 274, 275.  
 Crotolaria 242.  
 Croton 242.  
 Crucianella 237.  
 Cubeba 289.  
 Cucumis 63, 112.  
 Cucurbita 63, 117, 119, 316, 358.  
 Cumarin 6, 156, 157.  
 Curcuma 276.  
 Curcumin 276.  
 Cuscuta 46.  
 Catin 350.  
 Cyanin 26, 167.  
 Cyanophyceen 139, 262, 264.  
 Cyanophycinköner 402.  
 Cyanwasserstoffsaure 193.  
 Cyclamen 107, 405.  
 Cydonia 191, 353.  
 Cymbella 404.  
 Cynoglossum 357.  
 Cypripus 56, 78.  
 Cyphellum 209.  
 Cypripedium 120, 127, 128.  
 Cypripediumsekret 127, 128.  
 Cystein 70.  
 Cystolithen 10, 52, 53, 78.  
 Cystopus 343.  
 Cytaso 322—323.  
 Cytisin 295.  
 Cytisus 267, 295.

## D.

Daeryomyces 221.  
 Dahlia 56, 116, 135, 161, 269, 271, 272.  
 Dammar 168.  
 Dammar 52.  
 Datisca 224.

Datiscefin 224.  
 Datiscein 224.  
 Datura 290.  
 Dauens 61. 107. 265. 378.  
 Deckgläschen 14.  
 Deckzellen 79—80.  
 Deckplättchen 10.  
 Delessoria 87.  
 Dolphinin 304.  
 Dolphinium 268. 270. 304.  
 Domatium 340.  
 Dendrobium 313.  
 Desmanthus 201. 403.  
 Desmarostia 87.  
 Desmidiaceen 64.  
 Doutzia 77. 79.  
 Dhurria 191.  
 Dianthus 198. 266. 267.  
 Diastase 318.  
 Diatomeen 76. 77. 82. 257. 356.  
 Diatomin 257.  
 Dichorisandra 278. 370. 379.  
 Dielytra 300.  
 Dicranochaeta 381.  
 Dicranumgerbsäure 176.  
 Dictyota 87. 256.  
 Didymium 343.  
 Dimargaris 371.  
 Dimethylaminobenzaldehyd 147.  
 Dimorphoteca 193. 198.  
 Dionaea 164. 165.  
 Dionysia 127.  
 Diosma 183.  
 Diospyros 149. 369.  
 Diphenylamin 88.  
 Diphenylanilodihydrotriazol 90.  
 Dipteryx 156.  
 Doppelbrechung, Erkennung der 33.  
 Doronaeum 176.  
 Dracaena 62. 256. 382. 397.  
 Draparnaldia 401.  
 Drosera 60. 164. 369. 405. 406. 407.  
 Drosophyllum 137.  
 Dryobalanops 168.  
 Duleit 105.  
 Dumontia 263.

## E.

Eau de Javelle 20.  
 Ebonholzfarbstoff 859. 860.  
 Echoveria 124. 177.

Echites 242.  
 Echium 117.  
 Ecklonia 86.  
 Eichenrot 177.  
 Eisen 41.  
 —, locker gebundenes 41.  
 —, maskiertes 41. 48.  
 — -Reaktionen 41.  
 — -Bakterien 48.  
 — -Flechten 48.  
 Eiweiß, aktives 406.  
 — -Körper 319—318.  
 — -Kristalle im Kern 365.  
 — — im Plasma und Zellsaft 368.  
 — — im Aleuron 372.  
 — -Schläuche 323.  
 Elachista 87.  
 Elaeis 120. 122.  
 Elaioplasten 396. 397.  
 Elaiosomen 120.  
 Elatine 201.  
 Elodea 47. 249. 254.  
 Elymus 78. 123.  
 Embeliasäure 163.  
 Emetin 300.  
 Emodin 182. 229. 231. 234.  
 Empfindlichkeit der Reaktionen 3. 4. 27.  
 Empfindlichkeitsgrenzen 4. 27.  
 Empusa 313.  
 Emulsion 192. 197. 325.  
 Endodermis 350.  
 ENGELMANNsche Bakterienmethode 93.  
 Enzyme 318.  
 Epigaea 185.  
 Epipogon 388.  
 Epiphyllum 367. 368. 369.  
 Equisetum 45. 279.  
 Erica 313.  
 Erica 66.  
 Eriobotrya 325.  
 Erodium 268.  
 Erythricum 239.  
 Erythrin 217.  
 Erythrina 295.  
 Erythrorhizon 289.  
 Erythroxylen 286. 294.  
 Erythrozym 235.  
 Eschscholtzia 298.  
 Essigsäure 109.  
 Euastrium 64.  
 Eucalyptus 123. 226.

Euchresta 295.  
 Eugenia 405. \*  
 Eugenol 76. 146.  
 Euglena 402.  
 Eupatorium 242. 278.  
 Euphorbia 56. 84. 124. 171. 370.  
 Euphrasia 242.  
 Evernia 206. 210. 212.  
 Evodia 304.  
 Evonymus 106. 106.  
 Exogonium 187.

## F.

Faba 176.  
 Fagus 53.  
 Fällungen, künstliche 405—407.  
 Farbo, schwarze 279.  
 Farbstoffe 247.  
 — der Chromatophoren 247.  
 Fegatella 398.  
 FENLINGSsche Lösung 20.  
 Fermento 318—326.  
 Ferriverbindungen 41.  
 Ferroverbindungen 42.  
 Ferula 153.  
 — -Saure 153.  
 Festuca 187.  
 Fette 118—122.  
 Fette Öle 118. 166.  
 Fettplatten 399.  
 Fetttropfen 392.  
 Fibrininkörper 395.  
 Ficus 60. 77. 78. 84. 124. 171.  
 Filargebilde 399.  
 Filixrot 177.  
 Filtrierpapierstreifen 16.  
 Fisetin 223. 226.  
 Flavonderivate 223. 225.  
 Flechtenfarbstoffe 205—220.  
 Flechtensuren 205.  
 —, Nachweis der 206.  
 — der Benzolreihe 212.  
 — — Methanreihe 209.  
 Fluideenrot 259.  
 Florideenstauke 388. 399.  
 Fluoreszenz 82.  
 Fontinalis 43. 150. 399.  
 Fonquiera 56.  
 Frankenia 84.  
 Frangulin 182.  
 Frasera 224.

Fraxin 188.  
 Fraxinus 77. 107. 242. 367.  
 Frullania 397.  
 Fucin 354.  
 Fucoidin 354.  
 Fucosanblasen 391—393.  
 Fucosanthin 256. 257. 259.  
 Fucus 86. 87. 256. 402.  
 Fulgonia 218.  
 Fuligo 248.  
 Fumaria 300.  
 Funaria 399.  
 Funkia 397.  
 Furcellaria 87.

## G.

Gaertnora 399.  
 Gagea 199. 397.  
 Galactodendron 60.  
 Galanthus 137. 358.  
 Galega 242.  
 Galeopsis 228.  
 Galium 78. 237. 242.  
 Galtoria 56. 366. 368.  
 Gaudenia 238. 276.  
 Gasvakuolen 69.  
 Gaultheria 185.  
 Gaylussit 50.  
 Geaster 240.  
 Geasterin 240.  
 Gelbbeeren, chinesische 226.  
 Gelsemium 187.  
 Gonista 296.  
 Gonistin 226.  
 Gentiana 66. 223. 224. 388.  
 Gentiolin 224.  
 Gentisin 223.  
 Geoffroya 304.  
 Geranium 165.  
 Gerbsäuren 172.  
 Gerbstoffblasen 403.  
 Gerbstoffe 172—177. 403. 406.  
 Gerbstofftropfen 403.  
 Gerbstoffvakuolen 403.  
 Gum 146.  
 Gialolechia 210.  
 Gibbaldia 176.  
 Ginkgo 122. 160.  
 Gipskriställchen 54.  
 Gipsplättchen 85.  
 Glasdosen 15.

Glaskapillaren 16. 82.  
 Glasnadeln 15.  
 Glasperle, schwarze 82.  
 Glaspipetten 16.  
 Glasröhren 16.  
 Glasstäbe 16.  
 Glois 116.  
 Glidine 314.  
 Globoide 57. 372—375.  
 Globularia 155. 226.  
 Globuline 314. 374.  
 Gloeocapsa 264. 273.  
 Gloeocapsin 273.  
 Gloxinia 367.  
 Glukoproteide 314.  
 Glykogen 187—139.  
 Glykonasturtiin 186.  
 Glykoside 181—200.  
 Glykotropaeolin 186.  
 Goldfarn 128.  
 Goldfussia 53. 242.  
 Goodyera 388.  
 Graminin 137.  
 Gration 371.  
 Guajakharzlosung 319.  
 Guajakwasserstoffsuperoxyd 319.  
 Gummi 351—354.  
 Gummiharze 168 169  
 Gyalolechia 210.  
 Gymnocladus 348.  
 Gymnogongrus 87  
 Gymnogramme 128. 129.  
 Gymnogrammen 128.  
 Gynocaulis 198  
 Gypsophila 197 199.

II.

Hadromal 346.  
 Haemalaun 22  
 Haematoxylin 43. 228  
 — -Lösung nach BOEHMER 21.  
 — — DELAFIELD 22.  
 Haematoxylon 228.  
 Halydris 87.  
 Hartwegia 92. 348.  
 Harze 165. 168—170.  
 Heboelinium 55.  
 Hedysarum 268.  
 Helianthus 92. 112. 119. 316. 359.  
 Helichrysin 276.  
 Helichrysum 272. 276. 277.

Heliconia 123.  
 Homizellulosen 335. 338. \*  
 Herniaria 156.  
 Hesperidin 188.  
 Hibiscus 88. 199.  
 Hierochloa 156.  
 Hildenbrandtia 87.  
 Himenodictum 187.  
 Hippuris 367.  
 Hohenbergia 350.  
 Hoja 84.  
 Hololachne 55.  
 Holzstoff 148.  
 — -Reaktionen 344—346.  
 Holzsubstanz 344.  
 Homalanthus 84.  
 Homofluoresceinprobe 216  
 Hordenum 199.  
 Hyocyamin 291.  
 Hyoscyamus 291.  
 Hyazinthus 111  
 Hydnum 220.  
 Hydrangea 198  
 Hydrastin 307—308  
 Hydrastis 286. 305.  
 Hydnus 259  
 Hypochlorin 249.  
 Hyssopus 183.

#### I und J.

Jalape 187.  
 Jasmimum 107. 239.  
 Jatropha 84. 369  
 JAVELLESche Lauge 20  
 Jels 141.  
 Ignatiusbohnen 301. 302  
 Ilex 286 310  
 Ilicium 122.  
 Impatiens 339 370.  
 Indigblau 239. 241. 243—246.  
 Indigofera 241. 246  
 Indigopflanzen 11.  
 Indigorot 242.  
 Indigotin 241.  
 Indigweiß 21. 97.  
 Indican 241—246.  
 Indol 239—240.  
 — zum Nachweis des Lignins 344.  
 — -Derivate 239.  
 Indophenolprobe 320.  
 Indoxyl 241. 245.

Inklusen 147, 149.  
 Inula 135.  
 Inulin 185.  
 Instrumente 18.  
 Jod 84.  
 Jodalkohol 17, 18.  
 Jodechloralhydrat 19.  
 Jodeosin 27.  
 Jodglyzerin 18.  
 Jodjodkalium 18.  
 Jodlösungen 18.  
 Jodphosphorsäure 19.  
 Jodtinktur 18.  
 Jodwasser 18.  
 Jodzinnchlorid 19.  
 Jonidium 137.  
 Ipomoea 84.  
 Irosine 265.  
 Iris 137, 388.  
 Irisin 137.  
 Isatan 241.  
 Isatase 246.  
 Isatin 246.  
 Isatis 11, 241, 245.  
 Isorhamnetin 226.  
 Juglans 163, 164.  
 Juglon 162—164.  $\alpha$ -Hydrojuglon 163, 164.  
 Juglonkupfer 163.

## K.

Kaffein 309—311.  
 Kalium 60.  
 Kaliumbiocxalat 111.  
 Kaliummyronat 186, 324.  
 Kalkkarbonat 52, 69.  
 Kalkmalat 56.  
 Kalkmalophosphat 56.  
 Kalknachweis 48.  
 Kalkoxalat 50, 57, 109, 373, 374.  
 Kalk, pektinsaurer 57, 58.  
 Kalkphosphat 56.  
 Kalkphosphatsphärite 56.  
 Kalksulfat 54.  
 Kalmia 186.  
 Kampfer 167.  
 Kampferol 226.  
 Karbonate 72.  
 — Bläuung durch Chlorzinkjod 336.  
 Kationen 41.  
 Kautschuk 165, 170.

Kautschuk-Kügelchen 171.  
 Kegelzellen 10.  
 Korn, Einschlüsse des 365.  
 —, Eiweißkristalle des 365.  
 Kornkörperchen 317.  
 Korria 77.  
 Kieselkörper 79—81.  
 Kieselkurzzellen 10.  
 Kieselstübe 74.  
 Kieselenskelette 74, 75.  
 Kieselzellen 81.  
 Kinorot 177.  
 Kleesalz 111.  
 Klopstockia 123.  
 Knoblauchöl 140.  
 Kohlensäure 53, 72.  
 Kohle 78.  
 Kohlehydrate 129.  
 Kohlenstoff 73.  
 Kompositen 9.  
 Kongorot 26.  
 Kork 347—350.  
 Korkreaktionen 348—349.  
 Kristallsystem 34.  
 Krynitzia 239.  
 Kupferoxydammoniak 19.  
 Kutikula 347, 350, 351.  
 Kutikularschichten 351.

## L.

Lackmus 26, 216.  
 Lackmussäure 4, 26.  
 Ladenburgia 300, 367.  
 Lakkase 319.  
 Laminaria 85, 86, 87, 107, 256.  
 Laminarin 393.  
 Laminum 96.  
 Lapachol 165.  
 Laportea 78.  
 Larix 190.  
 Lathraea 52, 242, 365, 367, 371.  
 Lathyrus 266, 267.  
 Laurencia 401.  
 Laureocerasin 192.  
 Laurus 107, 146, 160.  
 Lebermoose, Ölkörper der 397—398.  
 Lebewesen als Reagens 4.  
 Lecanorot 218.  
 Lecanorsäure 216.  
 Lecidea 218, 219.  
 Lecideagrün 218.

Ledum 186.  
 Lemanea 263.  
 Leontico 306.  
 Lepidium 141.  
 Lepraria 205, 206, 210, 211.  
 Leptomin 321—322.  
 Leptomitrus 394.  
 Leucin 118.  
 Leucoeyan 256, 257.  
 Leucojum 9, 137.  
 Leuchtbakterienmethode 95.  
 Lenkoplasten 377, 378.  
 Lenkolin 393.  
 Lenkosomen 379.  
 Liatriis 156.  
 Lichtseiten der Mikrochemie 3.  
 Lignin 344—347.  
 Ligustrum 107, 191, 192.  
 Lilium 166.  
 Limnanthaceen 9.  
 Limnanthemum 367.  
 Limnocharis 271.  
 Linamarin 193.  
 Linaria 183, 271, 272.  
 Linnm 193, 353, 367.  
 Lipochrome 221.  
 Lithospermum 62, 117, 239, 357.  
 Ioasa 78.  
 Lobelia 278.  
 Lobeliaceen 9.  
 Lokalisation 6.  
 Lonicera 255.  
 Lophospermum 366.  
 Loranthus 81.  
 Lotollavin 226.  
 Lotus 271.  
 Lungeneigment 73.  
 Lunularia 398.  
 Lape 14.  
 Lupinus 117, 152, 286, 295.  
 Luteofilin 277.  
 Luteolin 226.  
 Luzula 279.  
 Lycoperdon 107.  
 Lycopodium 340.  
 Lykolin 255.

# M.

Macrotomia 239.  
 Madothea 199.  
 Magnesium 58.

Magnesiumammoniumphosphat 58—59.  
 Magnesiumoxalat 60.  
 Magnolia 77, 198.  
 Mahonia 112, 269—270, 305.  
 Malaxis 388.  
 Mandragora 291.  
 Mangan 46.  
 Manihot 198, 326.  
 Mannit 105, 106.  
 Marattia 55, 56.  
 Marattiaceen 55.  
 Marchantia 150.  
 Marsilia 176.  
 Marsdenia 242.  
 Mastigobryum 398.  
 Matéblätter 310.  
 Maxillaria 397.  
 Medicago 267.  
 Megacaryon 239.  
 Melaleuca 405.  
 Melampyrum 105, 106, 242, 366.  
 Melilotus 156, 157.  
 Mentha 183.  
 Monyanthes 367.  
 Mercurialis 92, 242, 254.  
 Mesembryanthemum 56, 271, 350, 382.  
 Mesocarpus 175.  
 Mesophyllsekret 382—384.  
 Mespilus 149, 192.  
 Methodik 5, 13.  
 Methyloeculin 188.  
 Methylechlorophyllid 248, 251.  
 Methyloorange 26.  
 Methysticinsäure 157.  
 Meum 107.  
 Micrastenas 54.  
 Microglena 393.  
 Microspora 401.  
 Mikrochemie, ihre Aufgabe 3.  
 —, — Ergebnisse 7.  
 Mikroelementaranalyse 31.  
 Mikrogramm 3.  
 Mikroskop 13.  
 Mikroskopisches Präparat, Herstellung  
 eines 22.  
 Mikrosublimation 28.  
 — mit Asbestplatte 29.  
 — — Uhrglas 29.  
 — — Glasring 29.  
 — im luftverd. Raume 30.  
 Milchsäure, Chloride des 84.

## MILCHSAUGER

Mniopsis 80.  
 Mniun 190. 249.  
 Morison's Reaktion 130.  
 Molybdänsäures Ammon 19. 70.  
 Monotropa 242. 388.  
 Moquilearinde 77. 78.  
 Morin 226.  
 Morinda 234. 235.  
 Morindin 234. 236.  
 Morindon 236.  
 Moringa 326.  
 Morphin 298.  
 Morus 84. 112.  
 Mougeotia 381.  
 Mourera 80.  
 Mucor 343.  
 Munjistin 237.  
 Murraya 239. 240.  
 Musa 123. 368. 371. 382.  
 Myelin 121—122. 400.  
 Mykosin 341. 342.  
 Myosotis 117. 357.  
 Myrica 66.  
 Myricaria 65.  
 Myricetin 226.  
 Myriophyllin 200.  
 Myriophyllum 200. 201.  
 Myristica 122. 124.  
 Myronsaures Kalium 141.  
 Myrosin 141. 312. 323.  
 Myrosinkorner 325.  
 Myrospermum 155.  
 Myroxylon 156.  
 Myrtus 160. 240.  
 Myxomycetoplasmodium 26.

## N.

Nadeln 15.  
 Nandina 305.  
 Narcissus 255. 313.  
 Nikotin 298.  
 Natrium 64.  
 Natriumfluosilikat 74.  
 Natriumhydrosulfit 97.  
 Natriumuranylacetat 64.

Nectria 221.  
 Nemophila 268.  
 Neottia 258. 378.  
 Nepenthes 371.  
 Nephromin 213.  
 Nerine 368. 370.  
 Nerium 84. 370.  
 Nessiens Reagens 19. 66.  
 Nicandra 298.  
 Nicotiana 290.  
 Nidularium 160.  
 Nigella 279.  
 Nigritella 156.  
 Nikol'sches Prisma 83.  
 Nikotin 290.  
 Nimhidrin 118.  
 Nitella 376. 377.  
 Nitophyllum 280. 401.  
 Nitrate 89.  
 Nitrite 89.  
 Nitron 91.  
 Notochlaena 128.  
 Nukleone 317.  
 Nukleinsäuren 314.  
 Nuklealbumine 314.  
 Nukleolus 317.  
 Nukleoproteide 314. 317.  
 Nuphar 371.  
 Nymphaea 62. 201. 405.

## O.

Objektträger 14.  
 Ochromanas 393.  
 Ocimum 146.  
 Oedogonium 160.  
 Ölkörper 396. 399.  
 Ölplastiden 162.  
 Öliopten 382.  
 Ölverfahren 203.  
 Oenanthe 107.  
 Olea 120.  
 Oligodynamin 4.  
 Oncidium 371. 397.  
 Ononis 268.  
 Onosma 117. 238.  
 Opographa 219.  
 Opium 298.  
 Opuntia 370.  
 Orcein 215.  
 Orehis 66. 363.  
 Orcin 215.

Oreohdervate 215.  
 Oritos 45, 46.  
 Orixia 304.  
 Orlean 278.  
 Ornithogalum 199, 396.  
 Orobus 199.  
 Orsoillo 215, 216.  
 Oryza 388.  
 Osazone 132.  
 Oscillaria 139, 262, 263.  
 Oscillarien 69.  
 Osmiumsäure 20.  
 Oxalate, gelöste 111.  
 Oxalis 111.  
 Oxalsäure 109, 111.  
 Oxydase 319.  
 Oxygonase 319.  
 Oxytropis 198.

# P.

Paeonia 339.  
 Pagamaea 399.  
 Pangium 197.  
 Panicum 55, 60, 193, 388.  
 Pankreatinglyzerin 316.  
 Papaver 84, 266, 271, 272, 298, 299.  
 Paphiopedilum 379.  
 Paranylum 390—391.  
 Parietaria 77.  
 Parietin 213.  
 Parmelia 206, 212, 216, 219.  
 Parmetabruun 219.  
 Paspalum 60.  
 Passiflora 371.  
 Paullinia 310.  
 Pavetta 238.  
 Paxillus 221.  
 Pedilanthus 84.  
 Pektine 354.  
 Pektinsäure 355.  
 Pektinstoffe 354, 356.  
 Pektosen 355.  
 Peiroskia 370.  
 Pelargonica 266.  
 Pelargonium 170, 266, 267, 268.  
 Penicillium 107.  
 Penium 54.  
 Pepsinglyzerin 316.  
 Pepton 314.  
 Porozia 359.  
 Porozon 163.

Poridinese-Chlorophyllin 259.  
 Poridinese-Farbstoffe 259.  
 Poridin 259.  
 Poridritsen 121.  
 Poroxydase 319.  
 Persica 192.  
 Pertusaria 207, 216.  
 Petraea 77.  
 Petunia 293.  
 Peziza 221.  
 Pflanzenfarbstoffe 205.  
 Phalaris 187.  
 Phaeocyan 257.  
 Phaeophyceenstärke 391.  
 Phaeophyll 256—259.  
 Phalaenopsis 313, 388.  
 Phaeophytin 249, 250.  
 Pflanzenasche und Chlorzinkjod 336.  
 Phajus 241, 244, 245, 378.  
 Phaseolus 63, 92, 117, 151, 192, 194, 197.  
 Phenole 146.  
 Phenylhydrazinprobe 132.  
 Phialopsis 218.  
 Phillyrea 107.  
 Phleba 137.  
 Phleum 137.  
 Phlobaphene 177.  
 Phloroglucin 146, 147.  
 Phloroglucin zum Nachweis des Lignins 344.  
 Phloroglykotannoide 148.  
 Phoenix 148, 338.  
 Pholidota 271.  
 Phosphor 70.  
 —, maskierter 71.  
 —, organischer 71.  
 Phosphate 71.  
 Phragmites 123.  
 Phthiusa 171.  
 Phykoeyan 9, 262—264.  
 Phykoerythin 9, 87, 259—262.  
 Phykophain 236, 392.  
 Phykopyrin 259.  
 Phykoanthin 256, 257.  
 Phyllophora 87.  
 Physalis 293.  
 Physcion 212, 213, 214.  
 Physoden 391.  
 Physostigma 294.  
 Phytolophas 80, 338.  
 Phytoma 332, 367.



Phytol 248.  
 Phytolacca 265. 371.  
 Phytomelano 358—360.  
 Phytophysa 394.  
 Pilea 394.  
 Pilobolus 343. 371.  
 Pilzfarbstoffe 220—222.  
 Pilzzellulose 341.  
 Pimenta 146.  
 Pinguicula 66. 153. 366. 367.  
 Pinastriinkuro 211.  
 Pinus 153. 190.  
 Pinzetten 15.  
 Piper 112. 157. 286. 289.  
 Piperin 239.  
 Pirola 149. 185. 186. 367.  
 Pirus 53. 192.  
 Pistia 404.  
 Pisum 92. 117. 151.  
 Pithecolobium 292.  
 Placodium 208. 213.-  
 Plagiobothrys 238.  
 Plasma, Einschlüsse des 365.  
 Plasmodiophora 343.  
 Plasmopara 343.  
 Platanus 117.  
 Platten, irisierende 400.  
 Platycodon 370.  
 Pleochroismus 33.  
 Pleopsidium 211.  
 Pleurotaonium 54.  
 Plocamium 87.  
 Plumaria 87.  
 Plumbagin 201.  
 Plumbago 201.  
 Podophyllum 304.  
 Podosphaera 396.  
 Podostemonaceen 80.  
 Pogostemon 146.  
 Polarisationsmikroskop 33.  
 Polarisator 33.  
 Polarisiertes Licht 83.  
 Polianthes 166.  
 Pollenschlauche 357.  
 Polygala 197. 241.  
 Polygonum 226. 242. 244. 245. 246. 254.  
 Polyides 87.  
 Polyphysa 137.  
 Polypodium 77. 107. 366. 371.  
 Polysiphonia 87.  
 Polystigma 221.

Polytrichum 176.  
 Pontederia 201.  
 Populin 190.  
 Populus 189.  
 Porphyra 87. 263.  
 Porphyridium 263.  
 Potamogeton 162. 255. 399.  
 Pothos 370.  
 Preissia 398.  
 Primelgift 125.  
 Primelmehlstaub 125.  
 Pimula 125. 126. 271.  
 Prodigiosin 221.  
 Proteide 313.  
 Proteine 313.  
 Proteinkörner 372—376.  
 Proteinkristalle 378.  
 Proteosomen 406. 407.  
 Protovoratin 308.  
 Prulaurasin 192.  
 Prunus 156. 157. 192. 194. 195. 196. 325.  
 Pseudolindian 242.  
 Pseudomonas 53.  
 Psychohormium 43.  
 Psilotum 340. 397.  
 Psychotria 236.  
 Pterocarya 164.  
 Pulmonaria 117. 358.  
 Pulvinisäurederivate 209.  
 Punica 107. 286.  
 Purn 309.  
 Purpurbakterien 69. 221.  
 Purpurin 236.  
 Pyrenoide 380—382. 392.

## Q.

Quercetin 226.  
 Quercitum 226.  
 Quercus 77.  
 Quillaja 51. 52. 197.

## R.

Radula 398.  
 Ramalina 212.  
 Raphanus 141. 324.  
 Raphiospora 211.  
 Rasiermesser 15.  
 Raspail'sche Reaktion 315.  
 Reagens, das lebende 4.  
 Reagentien 16. 24.  
 Reaktion des Zellinhaltes 26.

Reaktionen 5.  
 —, Eindeutigkeit der 6.  
 —, Mangel an 7.  
 —, Einführung der 24.  
 Reaumuria 55.  
 Reif 123.  
 Reinheit der Reagentien 24.  
 Romigia 90.  
 Romija 300.  
 Roseda 255, 273.  
 Rosedaceen 8.  
 Rosinogene Membranschicht 170.  
 Rhamnetin 226.  
 Rhamnus 148, 182, 231.  
 Rhein 231.  
 Rheum 111, 230, 231.  
 Rhinanthocyan 242.  
 Rhinanthus 242.  
 Rhipsalis 382.  
 Rhizocarpon 211, 212.  
 Rhizoidengrün 218.  
 Rhizokapsäure 211.  
 Rhizopus 343.  
 Rhodankalium zum Nachweis des Eisens 42.  
 Rhodankobalt 345.  
 Rhodobarillus 222.  
 Rhodocladonsäure 212, 215.  
 Rhodomela 87.  
 Rhodospermum 259.  
 Rhus 112, 121, 265, 320.  
 Rhus 192, 193, 279.  
 Ruinus 123, 372.  
 Rivina 367.  
 Rivakina 160.  
 Robina 56, 191.  
 Robina 226.  
 Roccella 216, 217.  
 Rochea 78.  
 Rohrzucker 131.  
 Rosa 255, 268.  
 Rosaceen 326.  
 Rosolsäure 26.  
 Ruberythinsäure 9, 236—238.  
 Rubin 78, 235, 242.  
 Rubiaceen 9.  
 Rubiadin 235.  
 Rudbeckia 359.  
 Rübenrot 265.  
 Ruellia 53, 241.  
 Rumex 111, 231.

Ruß 73.  
 Russolia 366.  
 Ruta 226.  
 Rutheniumrot 351, 354.  
 Rutin 226.  
  
 S.  
 Saccharomyces 349.  
 Saccharum 56, 123.  
 Saconssche Jodprobe 387.  
 Safflorgelb 272.  
 Safran 274.  
 Sagedia 218.  
 Salicin 189.  
 Salicornia 65, 111.  
 Salicylsäure zum Nachweis des Eisens 43.  
 Salicylsäures Natrium-Kresol 19.  
 Salix 189.  
 Salpetersäure 88.  
 Salpetrige Säure 88.  
 Salpiglossis 293.  
 Salsola 111.  
 Salvia 122.  
 Sambucus 96, 160, 193, 326, 336.  
 Sambunigin 193.  
 Sanchezia 242.  
 Sanguinaria 296, 297.  
 Sanguinaria 295, 297.  
 Sansevieria 256.  
 Santalum 158.  
 Sapindus 109, 198.  
 Sapium 84.  
 Saponarin 199.  
 Saponaria 197, 199.  
 Saponarin 198, 199, 226.  
 Saponin 197.  
 Saprolegnia 343.  
 Sarcanthus 346.  
 Sarcogyna 219.  
 Sargassum 86.  
 Saturnia 183.  
 Sauerstoff 93.  
 Säure Reaktion, Nachweis der 25—28.  
 Säuren 107, 150.  
 Saxifraga 52, 77, 201.  
 Scapania 399.  
 Schaefferia 106.  
 Schenckia 278.  
 Souffranches Reagens 22, 158.  
 Schleime 351—354.  
 Schleimvakuolen 402, 403.

- Schizosaccharomyces 340.  
 Schizosiphon 273.  
 Scilla 363.  
 Schmelzes Mischung 20.  
 Schwebekörperchen 69.  
 Schwefel 67.  
 Schwefelammonium zum Nachweis des Eisens 43.  
 Schwefelbakterien 67—69.  
 Schwefelverbindungen, organische 140.  
 Schweizerisches Reagens 19.  
 Scillin 187.  
 Scopolia 291.  
 Scorzonera 107.  
 Scrophularia 106, 183.  
 Scutellaria 227, 228.  
 Scutellarein 227.  
 Scutellarin 9, 227, 228.  
 Seytonema 263, 273, 279.  
 Seytonemin 273.  
 Secale 123.  
 Sedum 177.  
 Segostria 219.  
 Selaginella 255, 340.  
 Selensäure 254.  
 Sempervivum 109, 123.  
 Senecio 57, 96.  
 Senega 198.  
 Senföle 141.  
 Senfölglykoside 186.  
 Sennah 29, 231.  
 Serapsis 388.  
 Sericographus 241.  
 Serratula 277.  
 Serratulin 277.  
 Sotaria 60.  
 Sherardia 78, 237, 249.  
 Siebröhren 356—357.  
 Silberabscheidung 406.  
 Silberchlorid 82.  
 Silberfarn 128.  
 Silbernitrat 82, 83, 197, 325.  
 Silberoxalat 109.  
 Silicium 74.  
 Sinalbin 186, 312.  
 Sinapis 312.  
 Sinapis 43, 91, 186, 312.  
 Sinigrin 8, 186, 324.  
 Sinistrin 187.  
 Sisyrinchium 370.  
 Skalpelle 15.  
 Skatol 240, 241.  
 Skoparin 227.  
 Skopoletin 188.  
 Soja 56, 117.  
 Solanin 291.  
 Solanum 65, 91, 92, 112, 151, 291, 292, 371.  
 Solorina 214.  
 Solorinsäure 213, 214.  
 Sonchus 84.  
 Sophora 226, 242, 293.  
 Soranjidiol 234, 235.  
 Sorbit 106.  
 Sorbus 29, 53, 148, 192, 255.  
 Sordaria 340.  
 Sorghum 192, 388.  
 Spartium 295.  
 Spargula 201.  
 Spargulin 201, 202.  
 Spermococo 238.  
 Spermothamnion 87, 88.  
 Sphaecolaria 87.  
 Sphaeranthus 359.  
 Sphaeromphale 219.  
 Sphaeria 340.  
 Sphagnol 150.  
 Sphagnum 150, 270.  
 Spilanthes 242.  
 Spinacia 65, 96.  
 Spiraea 189, 197.  
 Spirillum 94, 404.  
 Spirogyra 173, 176, 249, 380, 381, 405, 406.  
 Spironema 379.  
 Spodogramma 9—11.  
 Stachelkugeln 373.  
 Stachys 151.  
 Stärke 384—388.  
 —, lösliche 198.  
 Stärkekörner 381.  
 Stärkekörner im polarisierten Lichte 34.  
 —, rote 388.  
 Stanhopea 388.  
 Stapelia 56.  
 Staphylococcus 221.  
 Statice 52, 84, 277.  
 Stigmata 10, 73.  
 Sterculia 310, 312.  
 Sticta 180.  
 Stictaurin 210.  
 Stictina 210.

Stiftfläschchen 15.  
 Stigeoclonium 402.  
 Stigma 402.  
 Strelitzia 123, 382.  
 Strobilanthus 243.  
 Strontiumacetat 72.  
 Strontiumkarbonat 72.  
 Strontiumoxalat 109.  
 Struthantus 171.  
 Strychnin 302—304.  
 Strychnos 286, 302—304.  
 Suberin 347—350.  
 Sublimation 28—32.  
 Substanzökonomie 4.  
 Sudan 119, 349.  
 Sweetia 388.  
 Symphytum 118, 353, 357.  
 Symplocos 45, 46.  
 Synchytrium 343.  
 Synergypta 402.  
 Synura 402.  
 Syringa 106, 191, 192.  
 Syringenin 191.  
 Syringin 191

# T.

Tabaschin 77.  
 Taenionema 101.  
 Tagetes 359  
 Tamaricaceae 51  
 Tamarindus 109, 112.  
 Tamarix 52, 55, 84  
 Tannin zum Nachweis des Eisens 43.  
 Taraxacum 28.  
 Taxm 313  
 Taxus 52, 313  
 Teakholz 57  
 Tecoma 165, 367  
 Terophilea 379  
 Tectona 57.  
 Terminalia 81.  
 Terniola 80  
 Terpene 165—168.  
 Tetmemorus 54.  
 Tetrapapier 320  
 Teucrium 228.  
 Thalictrum 192, 327.  
 Thallin 344.  
 Thalloacetat 82.  
 Thallochlorid 82.  
 Thalloidimagritin 218.

Thea 286, 310.  
 Telephora 220.  
 Thelephorsäure 220.  
 Thelochistes 213.  
 Theobroma 310, 311.  
 Theobromin 311.  
 Thermopsis 294.  
 Thlaspi 141.  
 Thottea 81.  
 Thuja 52, 123.  
 Thymus 228.  
 Tilia 240.  
 Tod der Zelle 6.  
 Toddalia 304.  
 Tolypothrix 160.  
 Tonerdekörper 46.  
 Tormentillrot 177.  
 Trachelomonas 43.  
 Trapa 43.  
 Tiadescantia 90, 379, 405.  
 Tiamates 220.  
 Tianea 26.  
 Trichomanes 79.  
 Trichomsekte 125  
 Trichopilia 371  
 Trimethylamin 27.  
 Trisetum 137.  
 Tristicha 80  
 Tritium 137.  
 Triticum 107, 137, 254  
 Trommersche Probe 139  
 Tropaeolin 26  
 Tropaeolum 151, 255, 339.  
 Tropffläschchen 15  
 Tryptophan 117.  
 Tulipa 121, 406.  
 Tunica 198  
 Tyrosin 150—153.  
 Tyrosinase 319.

# U.

Ulex 291.  
 Ulmus 53, 77.  
 Ulothrix 381, 402.  
 Ulva 381.  
 Uccolaria 217.  
 Urcellariarot 217.  
 Uriginea 137.  
 Uroglaena 402.  
 Urtica 3, 78, 91, 92, 109, 367.  
 Usnea 160, 212, 341.

Usnoin 341.  
 Usninsäure 211.  
 Utensilien 13.  
 Utricularia 153. 242. 366.

## V.

Vaccinium 149. 153. 185. 186.  
 Vaillantia 242.  
 Vallisneria 47.  
 Vanda 371.  
 Vanilla 161. 396.  
 Vanillin 161. 346.  
 Vanillinsäure 138. 146.  
 Vaucheria 109. 382. 383. 395.  
 Veratrin 309.  
 Veratrum 286. 309.  
 — -Alkaloide 309.  
 Verbascum 138. 271. 272.  
 Verbena 367.  
 Verdauung durch Fermente 317.  
 Verholzte Membranen 343.  
 Verholzung 843.  
 Verkorkte Membranen 347—350.  
 Verkorkung 347—350.  
 Veronica 96.  
 Vornearia 219.  
 Verseifung 119.  
 Verwandtschaft und Chemie 8—12.  
 Viburnum 326.  
 Vicia 116. 151. 271. 279.  
 Viola 226. 279. 326.  
 Visnea 240.  
 Vitis 66. 112. 265 358. 372. 374.  
 Vitoxsin 226.  
 Volutin 404—405  
 Vulpinsäure 209.

## W.

Wachs 123.  
 Wachsuberzug 123.  
 Wand 9.  
 Waifa 226.  
 Wasserkelch 123.

Wasserstoffsuperoxyd 97.  
 Weinrot 265.  
 Weinsäure 111.  
 Wimmeria 170.  
 Wrightia 241.  
 Wundgummi 354.  
 Wunstens Papier 320.

## X.

Xanthium 359.  
 Xanthondervative 223.  
 Xanthophyll 262.  
 Xanthoproteinsäure-Reaktion 314.  
 Xanthorhamnetin 226.  
 Xanthoria 213.  
 Xanthorhiza 305.  
 Xanthotrametin 220.  
 Xanthoxylon 304.  
 Xylophilin 147.

## Y.

Yucca 137.

## Z.

Zobrina 379.  
 Zeitökonomie 5.  
 Zellhaut 335—360.  
 Zellkern mit Proteinkristalloiden 365 bis 368.  
 Zellsaft, Einschlüsse des 365.  
 Zellulose 394—396.  
 Zelluloid 14.  
 Zellulose 335  
 —, echte 335—338.  
 — -Gruppe 335—341  
 — -Kornel 334.  
 — -Kristalle 337.  
 Zimtnot 177.  
 Zimtsäure 155.  
 Zucker 129.  
 Zuckerreaktionen 129—134.  
 Zusammensetzung, komplexe der Zelle 6.  
 Zygnuma 384. 403.



Professor Freudenberg schreibt über Molisch's Mikrochemie in „Die Naturwissenschaften“ 1922, Nr. 9: „... Doch nicht nur durch seine eigenen Entdeckungen spricht Molisch als Forscher unmittelbar zum Leser; er hat auch die meisten Ergebnisse anderer, wie er im Vorworte mitteilt, selbst nachgeprüft. Daher durchzieht das ganze Werk der lebendige Geist eigenster Erfahrung: so schenkt Molisch dem dankbar Lernenden außer überreicher Anregung auch ein Dokument echter Naturforschersarbeit.“

Weitere Schriften von

## Hans Molisch

Verlag von Gustav Fischer in Jena

**Grundriß einer Histochemie der pflanzlichen Genußmittel.** Mit 15 Holzschnitten im Text. 65 S. gr. 8° 1891 Gr.-Z. 2.—

**Die Pflanze in ihren Beziehungen zum Eisen.** Eine physiologische Studie. Mit einer farbigen Tafel. VIII, 119 S. gr. 8° 1892 Gr.-Z. 3.—

**Untersuchungen über das Erfrieren der Pflanzen.** Mit 11 Holzschnitten im Text. VIII, 73 S. gr. 8° 1897 Gr.-Z. 2.50

**Studien über den Milchsafft und Schleimsafft der Pflanzen.** Mit 33 Holzschnitten im Text. VIII, 111 S. gr. 8° 1901 Gr.-Z. 4.—

**Die Purpurbakterien nach neuen Untersuchungen.** Eine mikrobiologische Studie. Mit 1 Tafeln. VII, 95 S. gr. 8° 1907 Gr.-Z. 5.—

Zentralblatt für Physiologie, Bd. 22, Nr. 1. . . . Ein glanzendes Werk, das unser Wissen über diese merkwürdigen Organismen sehr erweitert und in physiologischer und bakteriologischer Hinsicht eine reiche Fülle neuer Resultate bietet

**Das Warmbad als Mittel zum Treiben der Pflanzen** Mit 12 Abbildungen im Text. VI, 38 S. gr. 8° 1909 Gr.-Z. 1.20

**Die Eisenbakterien.** Mit 3 Chromotafeln und 12 Abbildungen im Text VI 81 S. gr. 8° 1910 vergriffen.

**Leuchtende Pflanzen.** Eine physiologische Studie. Zweite, vermehrte Auflage. Mit 18 Abbildung im Text und 2 Tafeln. VIII, 200 S. gr. 8° 1912 Gr.-Z. 7.50

Die Naturwissenschaften 1913, Heft 5. . . . Es muß ganz besonders darauf hingewiesen werden, daß nicht nur der für physiologische Forschungen interessierte Fachmann, sondern auch jeder Laie, der an interessanten Naturerscheinungen nicht gleichgültig vorübergeht, hier eine Fülle von Aufklärungen und Anregungen zu eigenen Beobachtungen findet. A. Nestler.

**Pflanzenphysiologie als Theorie der Gärtnerei.** Für Botaniker, Gärtner, Landwirte, Forstleute und Pflanzenfreunde. Fünfte, neubearbeitete Auflage. Mit 150 Abbildungen im Text. X, 337 S. gr. 8° 1921 Gr.-Z. 6.—, geb. 9.—

**Anatomie der Pflanze.** Zweite, neubearbeitete Auflage. Mit 139 Abbildungen im Text. VI, 153 S. gr. 8° 1922 Gr.-Z. 2.70, geb. 4.50

**Populäre biologische Vorträge.** Zweite, durchgesehene und erweiterte Auflage. Mit 71 Abbildungen im Text. VII, 306 S. gr. 8° 1922 Gr.-Z. 3.—, geb. 5.50

*Der Preis für die angezeigten Bücher ergibt sich durch Vervielfältigung der hinter dem Titel stehenden Grundzahl (Gr.-Z.) mit der jeweils geltenden und je nach dem Marktwert sich verändernden Schlusszahl (S.-Z.). Die für gebundene Bücher sich ergebenden Preise sind nicht verbindlich. Bei Lieferung nach dem Ausland erfolgt Berechnung in der Währung des betr. Landes.*

**Die botanische Mikrotechnik.** Ein Handbuch der mikroskopischen Arbeitsverfahren von Dr. Hans Schneider. Zweite Auflage des gleichnamigen Werkes von Prof. Dr. A. Zimmermann. Mit 220 Abbildungen im Text. XII, 458 S. gr. 8° 1922 Gr.-Z. 7.50, geb. 10.50

Inhalt: 1. Das Mikroskop und sein Gebrauch. Allgemeine Mikrotechnik. Die Freihandtechnik. Das Töten und Aufbewahren pflanzlicher Objekte. Die Mikrotomarbeit. Das Färben der Präparate. Das Einschließen der Präparate. Allgemeine Methoden der Verwertung von Präparaten. — 2. Die wichtigsten qualitativ mikrochemischen Verfahren zum Nachweis von Pflanzenstoffen. Allgemeines. Organischer Teil, Anorganischer Teil. — 3. Die Zellwand. Allgemeines. Die einzelnen Zellwandstoffe. — 4. Der Protoplast und seine Einschlüsse. Allgemeines. Der Zellkern und seine Einschlüsse. Zentrionen, Das Plasma. Die Chromatophoren und ihre Einschlüsse. Andere eiweißartige Plasmaeinschlüsse. Ölige und gerbstoffhaltige Plasmaeinschlüsse. Einige andere Plasmaeinschlüsse bei niederen Pflanzen. — 5. Besondere Methoden zur Untersuchung von Vertretern der verschiedenen Pflanzengruppen; die wichtigsten Kulturverfahren.

**Morphologie und Biologie der Algen.** Von Dr. Friedrich Oltmanns, Prof. d. Bot. an der Univers. Freiburg i. Br. Zweite, ungenutzte Auflage. Erster Band: Chrysophyceae — Chlorophyceae. Mit 287 Abbildungen im Text. VI, 459 S. gr. 8° 1922 Gr.-Z. 7.50, geb. 10.50

Inhalt: 1. Chrysophyceae. — 2. Heterocontae. — 3. Cryptomonadales. — Euglenaceae. — 5. Dinoflagellata. — 6. Conjugatae. — 7. Bacillariaceae. — 8. Chlorophyceae (Volvocales, Protococcales, Ulotrichales, Siphonocladiales, Siphonales). Charales.

Zweiter Band: Phaeophyceae — Rhodophyceae. Mit 325 Abbild. im Text. IV, 439 S. gr. 8° 1922 Gr.-Z. 8.—, geb. 11.—

Inhalt: 9. Phaeophyceae (Ectocarpales, Sphaeriales, Cutleriales, Laminariales, Tilopteridales, Dictyotales, Fucales). — 10. Rhodophyceae (Aufbau der vegetativen Organe, Fortpflanzung).

Zeitschrift für Physiologie, Bd. VII, Heft 2/3: . . . Jedem, der über Algen arbeitet, wird dieses großangelegte Werk ein unentbehrlicher Wegweiser sein.

Österreich. botan. Zeitschr. 1905, Nr. 12: . . . eine ungemein wertvolle Zusammenfassung der die Algen betreffenden morphologischen, entwicklungsgeschichtlichen und ökologischen Kenntnisse.

Naturwissenschaftl. Wochenschrift vom 28. Januar 1906: . . . ein mustergültiges Kompendium für jeden, der sich um Algen kümmert oder etwas wesentliches von ihnen zu erfahren wünscht.

**Die Cucurbitaceen.** Von Prof. Dr. A. Zimmermann, Wolfenbüttel.

Heft 1. Beiträge zur Anatomie und Physiologie. Mit 95 Abbildungen im Text. VIII, 204 S. gr. 8° 1922 Gr.-Z. 6.—

In diesem Werke hat der am Landwirtschaftlichen Institut Amani in Deutsch Ostafrika 18 Jahre tätig gewesene Verfasser die Ergebnisse seiner Untersuchungen über die Familie der Cucurbitaceen niedergelegt. Die Untersuchungen erstrecken sich auch auf anatomische, physiologische, morphologische, biologische und pathologische Fragen, deren Bearbeitung besonders dadurch wertvoll ist, daß der Verfasser die meisten Arten auf der Versuchstation des Instituts heranzüchtete und in den verschiedenen Entwicklungsstadien beobachten konnte. Die Arbeit beschränkt sich nicht nur auf die in Ostafrika wild wachsenden Arten, sondern auf alle dem Verfasser in der ganzen Kolonie zugänglichen Cucurbitaceen.

Heft 2. Beiträge zur Morphologie, Anatomie, Biologie, Pathologie und Systematik. Mit 99 Abbild. im Text. IV, 185 S. gr. 8° 1922 Gr.-Z. 8.—

Inhalt: 1. Zur Morphologie der vegetativen Organe. 2. Zur Morphologie der reproduktiven Organe. 3. Die Trichome der Blüten. 4. Die Farbstoffe der reproduktiven Organe. 5. Zur Blütenbiologie. 6. Das Verhalten des nachsten Systems an Wundflächen. 7. Über tierische Schädlinge. 8. Fütterungsversuche. 9. Beschreibung neuer Arten und Varietäten.